

Charakterisierung der Expression verschiedener  
Somatostatinrezeptoren und des Chemokinrezeptors  
CXCR4 in Kleinzelligen und Nichtkleinzelligen  
Bronchialkarzinomen

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Claudia Stumpf  
geboren am 28.03.1991 in Oelsnitz im Vogtland

Gutachter:

1. Frau Prof. Dr. Amelie Lupp, Jena
2. Frau PD Dr. Brigitte Kaiser, Jena
3. Herr PD Dr. Michael Kretzschmar, Gera

Tag der öffentlichen Verteidigung: 03.05.2016

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abk.</b>	<b>Erklärung</b>
5-J-ÜLR	5-Jahres-Überlebensrate
<sup>68</sup> Ga	<sup>68</sup> Gallium
<sup>68</sup> Ga-CPCR4-2	<sup>68</sup> Gallium-cyclo(D-Tyr1-D-[NMe]Orn2-[AMBS-DOTA]-Arg3-2-Nal4-Gly5)
Abb.	Abbildung
AEC	Aminoethylcarbazol
AKT	Proteinkinase B
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CPCR4-2	cyclo(D-Tyr1-D-[NMe]Orn2-[AMBS-DOTA]-Arg3-2-Nal4-Gly5)
CPCR4-2-PET	cyclo(D-Tyr1-D-[NMe]Orn2-[AMBS-DOTA]-Arg3-2-Nal4-Gly5)-Positronen-Emissions-Tomographie
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
CRK	CT10 Regulator of Kinase
CRK-L	CT10 Regulator of Kinase-Ligand
CT	Computertomographie
CXCL-12	CXC-Motiv-Chemokin-Ligand 12
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
CXCR7	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 7
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAG	1,2-Diacylglycerin
EGF	Epidermal-Growth-Factor
EGFR	Epidermal-Growth-Factor-Rezeptor
ERK1/2	extracellular-signal-regulated kinases 1/2
FAK	fokale Adhäsions-Kinasen
FDG	Fluordesoxyglucose
FDG-PET	Fluordesoxyglucose-Positronen-Emissions-Tomographie
GDP	Guanosindiphosphat
GH	Growth Hormone
GRK	G-Protein-gekoppelte-Rezeptor-Kinasen
GTP	Guanosintriphosphat

HE	Hämatoxylin-Eosin
Her2/neu	human epidermal growth factor receptor 2
HIF	Hypoxie-induzierter Faktor
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IRS	immunreaktiver Score
Ki-67	Proliferationsindex
LCNEC	Großzellige neuroendokrine Karzinome (large cell neuroendocrine carcinoma)
MRT	Magnetresonanztomographie
NF $\kappa$ B	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NSCLC	Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (non-small cell lung cancer)
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PET/CT	Positronen-Emissions-Tomographie kombiniert mit Computertomographie
PI3-Kinase	Phosphoinositid-3-Kinase
RSA	Rinderserumalbumin
SCLC	Kleinzelliges Bronchialkarzinom (small cell lung cancer)
SCNEC	Kleinzellige neuroendokrine Karzinome (small cell neuroendocrine carcinoma)
SDF-1	stromal cell-derived factor 1
SIH	somatotropin-inhibitory hormone
SSTR	Somatostatinrezeptor
Tab.	Tabelle
TNM	TNM-Klassifikation (T: Tumor, N: Node, M: Metastasen)
TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
UICC	Union international contre le cancer
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

VIP

Vasoaktives Intestinales Peptid

WHO

World Health Organization

## **Inhaltsverzeichnis**

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung.....	4
2.1	Bronchialkarzinome.....	4
2.1.1	Epidemiologie.....	4
2.1.2	Pathogenese.....	5
2.1.3	Histologie der Subtypen.....	5
2.1.4	Klinik.....	8
2.1.5	Diagnostik.....	9
2.1.6	Prognose.....	15
2.1.7	Therapie.....	16
2.2	Chemokine.....	20
2.2.1	Aufbau und Klassifikation der Chemokine.....	20
2.2.2	Das Chemokin SDF-1.....	21
2.3	Chemokinrezeptoren.....	22
2.4	Der Chemokinrezeptor CXCR4.....	23
2.4.1	Aufbau und Funktion des CXCR4.....	23
2.4.2	Der Signaltransduktionsweg des CXCR4.....	24
2.4.3	Bedeutung des CXCR4 bei der Entstehung bösartiger Neubildungen.....	25
2.4.4	Vorkommen des CXCR4 beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom.....	27
2.4.5	Vorkommen des CXCR4 beim Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom.....	27
2.4.6	CXCR4-Antagonisten.....	28
2.4.7	CXCR4-Nachweis mittels <sup>68</sup> Ga-CPCR4-2-PET.....	30
2.5	Somatostatin.....	30
2.6	Somatostatinrezeptoren.....	31
2.6.1	Signaltransduktion der Somatostatinrezeptoren.....	32
2.6.2	Vorkommen der Somatostatinrezeptoren.....	33
2.6.3	Bedeutung der Somatostatinrezeptoren bei bösartigen Neubildungen.....	33

3	Ziele der Arbeit .....	35
4	Material und Methoden .....	36
4.1	Materialien und Substanzen .....	36
4.1.1	Tumormaterial / Präparate .....	36
4.1.2	Puffer und Lösungen .....	36
4.1.3	Substanzen für die Immunhistochemie .....	38
4.1.4	Geräte und sonstige Materialien .....	38
4.1.5	Antikörper .....	39
4.2	Methoden .....	41
4.2.1	Immunhistochemie .....	41
4.2.1.1	Entparaffinieren der Schnitte und Demaskierung der Rezeptoren .....	41
4.2.1.2	Antikörperbindung und Färbung .....	42
4.2.1.3	Hämatoxylin-Gegenfärbung und Eindecken .....	43
4.2.2	Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung .....	43
4.2.3	Scores .....	44
4.2.3.1	Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner .....	44
4.2.3.2	Bewertung nach dem Her2/neu-Score .....	45
4.2.3.3	EGFR-Score .....	46
4.2.4	Ki-67-Protein .....	47
5	Ergebnisse .....	48
5.1	Patientendaten .....	48
5.2	Klinische Daten .....	50
5.2.1	TNM-Klassifikation .....	50
5.2.2	Grading .....	52
5.2.3	Überleben .....	52
5.3	Immunhistochemie .....	53
5.3.1	Auswertung der Ki-67-Färbung .....	53
5.3.2	Auswertung der Somatostatinrezeptor-Färbung .....	55

5.3.3 Auswertung der CXCR4-Färbung .....	65
5.3.4 Expressionsmuster .....	67
5.3.4.1 Expressionsmuster bei den Adenokarzinomen.....	67
5.3.4.2 Expressionsmuster bei den Plattenepithelkarzinomen .....	68
5.3.4.3 Expressionsmuster bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen.....	69
5.3.5 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten, aufgeteilt nach Tumorentitäten .....	70
5.3.5.1 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Adenokarzinomen .....	70
5.3.5.2 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Plattenepithelkarzinomen .....	75
5.3.5.3 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen.....	80
5.4 Korrelationen .....	85
5.4.1 Korrelationen zwischen den Rezeptorexpressionsintensitäten innerhalb der verschiedenen Tumorentitäten .....	86
5.4.2 Korrelationen zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score .....	88
5.4.3 Unterschiede in der Rezeptorexpression zwischen den Tumorentitäten .....	89
5.4.4 Ki-67-Auswertung .....	95
5.4.5 Score versus Erkrankungsalter.....	98
5.4.6 Score versus Grading .....	98
5.4.7 Korrelation zwischen Ki-67-Index und Überleben.....	100
5.4.8 Korrelation zwischen der Expression der Somatostatinrezeptoren und des CXCR4 und dem Überleben .....	101
6 Diskussion.....	103
6.1 Immunhistochemische Untersuchung der Tumorpräparate.....	103
6.1.1 Häufigkeiten der Somatostatinrezeptorsubtyp-Expression.....	103
6.1.2 Häufigkeiten der CXCR4-Expression.....	110
6.1.3 Expressionsmuster .....	113



6.1.4 Vergleich der Scores .....	115
6.2 Korrelationen zwischen den Expressionsintensitäten der Rezeptorsubtypen.....	117
6.3 Ki-67-Index .....	118
6.4 Überleben.....	120
7 Schlussfolgerungen .....	122
8 Literaturverzeichnis .....	124
9 Anhang.....	131
9.1 Lebenslauf.....	131
9.2. Ehrenwörtliche Erklärung.....	132
9.3 Danksagung.....	133

# 1 Zusammenfassung

Jedes Jahr erkranken in Deutschland etwa 17.000 Frauen und 35.000 Männer an einem Bronchialkarzinom. Damit stellt dieses die dritthäufigste Tumorerkrankung in der deutschen Bevölkerung dar. Die Hauptursache für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms ist die Inhalation verschiedener Noxen wie Nikotin, Asbest, Arsen, Radon oder Chromverbindungen. Histologisch lässt sich das Bronchialkarzinom in das Kleinzellige und das Nichtkleinzellige Bronchialkarzinom untergliedern. Das Nichtkleinzellige Bronchialkarzinom unterteilt sich wiederum in verschiedene Subgruppen, zu denen unter anderem auch das Adenokarzinom und das Plattenepithelkarzinom zählen.

Patienten mit einem Bronchialkarzinom haben derzeit nur eine geringe Überlebenszeit. Ebenso gibt es aktuell nur wenige wirksame therapeutische Optionen für die Behandlung des Bronchialkarzinoms. Daher liegt die Suche nach neuen Zielstrukturen für eine mögliche Therapie nahe. Solche neuen Zielstrukturen könnten beispielsweise der Chemokinrezeptor CXCR4 oder die verschiedenen Somatostatinrezeptorsubtypen darstellen.

Der G-Protein-gekoppelte Rezeptor CXCR4 ist der bisher am besten erforschte Chemokinrezeptor, da er beim Eintritt des HI-Virus in die Zelle eine entscheidende Rolle spielt. Weiterhin übernimmt er eine wichtige Funktion bei der Hämatopoese, Organogenese und Vaskularisation im menschlichen Körper und wird dabei in vielen verschiedenen Zellen und Geweben wie beispielsweise hämatopoetischen Stammzellen, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Niere, Lunge, Leber, Gehirn, Kolon, Milz, Thymus, Lymphknoten, Hypophyse und Nebenniere exprimiert. Neben seinem Vorkommen in Normalgeweben wurde der CXCR4 auch bei vielen humanen Tumoren gefunden. Bisher sind 23 verschiedene CXCR4-exprimierende Tumorarten bekannt, wie beispielsweise Brustkrebs, Prostatakrebs, die akute myeloische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphome, Kleinzellige Bronchialkarzinome, Melanome oder Gliome.

Neben dem CXCR4 wurden in der vorgelegten Arbeit auch die Somatostatinrezeptoren untersucht. Diese G-Protein-gekoppelten Rezeptoren konnten bereits in verschiedenen humanen Geweben, wie beispielsweise Hypophyse, Zerebellum, Speicheldrüsen, Schilddrüse, Nebenschilddrüsen, Blutgefäßen, Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Milz, Duodenum, Ileum, Kolon, Pankreas, Hoden und Eierstöcken,

nachgewiesen werden. Weiterhin wurde eine Expression verschiedener Somatostatinrezeptor-Subtypen auch schon in diversen Tumorgeweben gezeigt. Darunter zählen besonders neuroendokrine Tumore aber auch Neuroblastome, Meningeome, Medulloblastome, Kleinzellige Bronchialkarzinome, Lymphome, Nierenzellkarzinome, Mammakarzinome und hepatozelluläre Karzinome.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand nun darin, die Lungentumorentitäten Kleinzelliges Bronchialkarzinom, Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom auf ihre CXCR4- und Somatostatinrezeptor-Expression hin zu untersuchen. Hierzu erfolgte die immunhistochemische Analyse von 57 Tumoren, die vom Labor für Pathologie und Zytologie in Bad Berka zur Verfügung gestellt wurden. Die Färbung der Präparate wurde mit spezifischen Antikörpern gegen die Somatostatinrezeptoren 1 bis 5 sowie gegen den CXCR4 vorgenommen. Anschließend wurde jedes Präparat lichtmikroskopisch untersucht und mit Hilfe verschiedener immunhistochemischer Scores bewertet, um eine Aussage über die Expressionsmenge und -intensität der jeweiligen Rezeptoren treffen zu können. Die Auswertung erfolgte durch den Immunreaktiven Score nach Remmele und Stegner (IRS), den Her2/neu-Score und den EGFR-Score. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde der EGFR-Score in der vorliegenden Arbeit bei den weiterführenden statistischen Berechnungen nicht mit aufgeführt.

Bei der Auswertung der 22 Adenokarzinome fand sich bei allen Präparaten eine CXCR4-Expression. Zusätzlich zeigten 95% der Tumore eine SSTR5-Positivität. Das häufigste Expressionsmuster nach der IRS-Klassifikation war bei den Adenokarzinomen mit 18% der Fälle eine Positivität für den SSTR1, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Die höchsten Färbeintensitäten ergaben sich für die Rezeptoren SSTR5 und CXCR4. Der SSTR3 konnte bei den Adenokarzinomen mit 18% der Fälle nach der IRS-Klassifikation nur sehr selten gefunden werden. Zusätzlich zeigten die Präparate für den SSTR3 und SSTR2 lediglich schwache Rezeptorfärbungen. Bei der gemeinsamen Betrachtung aller Scoringssysteme ergab sich für das Adenokarzinom nur eine Korrelation zwischen der Expressionsstärke des SSTR1 und des SSTR4.

Bei der Untersuchung der 21 Plattenepithelkarzinome fand sich bei allen Präparaten eine SSTR5- und bei 95% der Tumore eine CXCR4-Positivität. Nach der IRS-Klassifikation zeigten 24% der Präparate als häufigstes Expressionsmuster eine Färbung für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR5 und CXCR4. Im Unterschied dazu ergab sich nach dem Her2/neu-Score mit 33% der Fälle als häufigstes Expressionsmuster das

gemeinsame Vorkommen der Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Die stärkste Intensität der immunhistochemischen Färbung konnte bei den Rezeptoren SSTR5 und CXCR4 verzeichnet werden. Am seltensten wurden der SSTR3 und der SSTR4 beim Plattenepithelkarzinom angefärbt. In den drei Bewertungssystemen IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score fanden sich Korrelationen zwischen der Expressionsstärke der Rezeptoren SSTR1 und SSTR3, SSTR2 und CXCR4, SSTR3 und SSTR4 sowie SSTR4 und SSTR5.

Weiterhin wurden 14 Fälle von Kleinzelligen Bronchialkarzinomen untersucht. Dabei fand sich bei allen Präparaten eine SSTR5- und eine CXCR4-Expression. Das häufigste Expressionsmuster bestand aus einer Kombination der Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Der SSTR3 war bei diesen Tumoren am seltensten positiv und auch nur schwach exprimiert. Eine starke Korrelation zeigte sich zwischen der Expressionsstärke des SSTR1 und des SSTR2, des SSTR1 und des SSTR4, des SSTR1 und des SSTR5, des SSTR1 und des CXCR4 sowie des SSTR5 und des CXCR4.

Bezüglich des Überlebens, konnte in der hier vorgestellten Arbeit kein Zusammenhang zwischen der Dauer des Überlebens und der Expressionsstärke der verschiedenen Somatostatinrezeptoren oder des CXCR4 verzeichnet werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der CXCR4 und der SSTR5 beim Bronchialkarzinom aufgrund ihrer häufigen und intensiven Expression als diagnostische oder therapeutische Zielstrukturen in Zukunft eine Rolle spielen könnten. So wäre ein Einsatz des CXCR4-Antagonisten Plerixafor (AMD3100) oder des Somatostatin-Analogons Pasireotid eine denkbare neue Option für die Therapie des Bronchialkarzinoms. Weiterhin könnte der Nachweis der Somatostatinrezeptoren oder des CXCR4 beim Bronchialkarzinom auch als Grundlage für eine Radiorezeptorthherapie genutzt werden und damit eventuell eine neue Behandlungsoption für die betroffenen Patienten darstellen. Neben der möglichen Bedeutung in der Therapie maligner Erkrankungen könnte man die Expression des CXCR4 oder der Somatostatinrezeptoren in Zukunft auch für diagnostische Zwecke nutzen. Beispielsweise wären die Rezeptoren als mögliche Zielstrukturen bei der PET/CT-Diagnostik denkbar.

## 2 Einleitung

### 2.1 Bronchialkarzinome

Als Bronchialkarzinome bezeichnet man maligne Neubildungen der Bronchien, die vom respiratorischen Epithel ausgehen.

#### 2.1.1 Epidemiologie

##### *Deutschland*

Das Bronchialkarzinom ist in Deutschland, nach dem Prostatakarzinom und den malignen Veränderungen des Darms mit 13,8% der dritthäufigste Tumor des Mannes und ebenfalls der dritthäufigste Tumor der Frau mit 7,0% der malignen Erkrankungen (nach Brustkrebs mit einem Anteil von 32,1% und Darmkrebs mit einem Anteil von 13,5% an allen Tumoren) (Robert-Koch-Institut, 2012). Jedes Jahr erkranken in Deutschland etwa 52.000 Menschen an Lungenkrebs, davon 35.000 Männer und 17.000 Frauen. Damit ist etwa jede 7. Krebsneuerkrankung beim Mann und jede 16. Neuerkrankung bei der Frau durch Lungenkrebs verursacht. 26% aller krebsbedingten Todesfälle bei Männern und 10% bei Frauen gehen in Deutschland auf die häufigste Krebstodesursache Lungenkrebs zurück. 2005 starben insgesamt 40641 Patienten an Lungenkrebs, davon 28959 Männer und 11682 Frauen. Die Mortalitätsrate nimmt mit dem Alter zu und gipfelt zwischen dem 80. und dem 84. Lebensjahr. Seit den 1980er Jahren sinkt die Inzidenzrate bei den Männern stetig, wohingegen sie bei den Frauen kontinuierlich ansteigt (Goeckenjan et al. 2010).

##### *Weltweit*

McErlean und Kollegen beschreiben das Bronchialkarzinom bei Männern als die häufigste Tumorentität weltweit, mit den höchsten Raten in Nordamerika, Ostasien, Zentral- und Südeuropa. Auch in den Entwicklungsländern in Westasien und in der Karibik sowie in Südafrika findet sich eine hohe Prävalenz an Bronchialkarzinomen. Die Erkrankungshäufigkeit nimmt in den entwickelten Ländern derzeit ab; im Gegensatz dazu steigt sie in den Entwicklungsländern weiter an. Insgesamt scheint die Zahl der Neuerkrankungen bei den Männern konstant zu bleiben beziehungsweise leicht zurückzugehen. Dagegen steigt jedoch die Inzidenz und die Mortalität der Bronchialkarzinome bei den Frauen weltweit weiter an (McErlean und Ginsberg 2011).

### 2.1.2 Pathogenese

Als Hauptursache für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms gilt die Inhalation von Noxen. Dabei werden etwa 85% der Karzinome durch Tabakrauch und 8% durch berufliche Karzinogene wie beispielsweise Asbest, Arsen, Radon oder Chromverbindungen ausgelöst (McErlean und Ginsberg 2011). Bereits seit den 1950er Jahren untersucht man den Zusammenhang zwischen Zigarettenrauch und der Entstehung von Bronchialkarzinomen. Mittlerweile gibt es unzählige Studien, die sich mit diesem Thema auseinandergesetzt haben. Dabei ließ sich Folgendes feststellen:

- Rauchen ist der wichtigste Entstehungsfaktor des Bronchialkarzinoms.
- Je länger man raucht und je früher man mit dem Rauchen beginnt, desto höher ist das Erkrankungsrisiko.
- Das Erkrankungsrisiko steigt proportional zur Anzahl der gerauchten Zigaretten.
- Je früher man mit dem Rauchen aufhört, desto größer ist der Nutzen (IARC 2004).

In Zahlen ausgedrückt, haben Raucher gegenüber lebenslangen Nichtraucherinnen ein 24-fach erhöhtes Risiko, an einem Bronchialkarzinom zu erkranken (Arastéh et al. 2009). Ehemalige Raucher haben noch immerhin ein 7,5-fach erhöhtes Risiko gegenüber lebenslangen Nichtrauchern. Raucherinnen haben gegenüber Nichtraucherinnen ein 8,7-fach erhöhtes Risiko.

Die berufliche Exposition gegenüber Kanzerogenen wird für ca. 9 bis 15% aller Lungenkrebsfälle verantwortlich gemacht. Die Latenzzeit liegt bei 30 bis 40 Jahren. Hierbei spielt besonders das radioaktive Edelgas Radon eine wichtige Rolle, das in geologisch belasteten Regionen Deutschlands, wie dem Erzgebirge oder dem Bayerischen Wald, in hohen Konzentrationen auftritt (Goeckenjan et al. 2010).

Ebenso scheint es bestimmte Gene oder Gen-Loki zu geben, die mit einem erhöhten Risiko für Bronchialkarzinome einhergehen (Saintigny und Burger 2012). Der genetische Beitrag zur Entstehung von Lungenkrebs spielt wohl besonders bei jungen Lungenkrebspatienten eine große Rolle (Goeckenjan et al. 2010).

### 2.1.3 Histologie der Subtypen

Histologisch untergliedert man Bronchialkarzinome in verschiedene Typen: Die zwei wichtigsten Untergruppen sind hierbei das *Kleinzellige* (SCLC = small cell lung cancer) und das *Nichtkleinzellige Bronchialkarzinom* (NSCLC = non small cell lung cancer), zu

dem das Großzellige Bronchialkarzinom, das Adenokarzinom und das Plattenepithelkarzinom gehören (Arastéh et al. 2009). Weiterhin gibt es Lungentumore, die aus dem neuroendokrinen System der Lunge entstehen und daher als neuroendokrine Tumore bezeichnet werden (Boecker et al. 2004).

75 bis 80% der Bronchialkarzinome zählen zu den Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen. Davon entfallen 35 bis 40% auf die Plattenepithelkarzinome, 25 bis 30% auf die Adenokarzinome und 5 bis 10% auf die Großzelligen Bronchialkarzinome (Karges und Dahouk 2009).

#### *Adenokarzinom*

Beim Adenokarzinom unterscheidet man zwischen einem azinären, papillären, bronchioalveolären und soliden Typ mit Schleimbildung. Meist liegen jedoch Mischungen der verschiedenen Tumorarten vor. Im Gegensatz zum Kleinzelligen Bronchialkarzinom sind die Tumorzellen scharf begrenzt. Die Zytoplasmamenge variiert stark zwischen den verschiedenen Zellen, ist aber in der Regel sehr groß. In den meisten Zellen erscheint das Zytoplasma homogen oder fein granuliert. Einige Zellen enthalten große schleimgefüllte Vakuolen, die die Zelle nahezu komplett ausfüllen und den Zellkern an den Rand drücken. Man nennt sie, ihrer Form entsprechend, Siegelringzellen (Brambilla et al. 2001). Adenokarzinome variieren in der Größe und der Lokalisation, meist sind sie jedoch peripheren Ursprungs (Piper 2007). Makroskopisch erscheinen Adenokarzinome aufgrund der zentralen Fibrose vorwiegend grau und weiß. Ebenso kommt es im Zentrum des Tumors zur Ablagerung von anthrakotischem Pigment. Weiterhin kann es im Tumor zur Bildung von Nekrosen oder Hohlräumen sowie zu Einblutungen kommen. Die Tumorränder sind lobulär, sternförmig oder irregulär. Bei der Beurteilung des Differenzierungsgrades kann man *gut* und *mäßig* von *schlecht differenzierten* Adenokarzinomen unterscheiden (Brambilla et al. 2001).

#### *Plattenepithelkarzinom*

90% aller Plattenepithelkarzinome werden durch den Konsum von Tabak verursacht. Der Hauptteil der Karzinome wächst zentral in der Nähe des Hauptstamms, der Lappen- oder Segmentbronchien. Die zytologische Erscheinungsform des Plattenepithelkarzinoms hängt vom Grad der Differenzierung und der Art der

Probenentnahme ab. Die Tumorzellen werden oft von nekrotischen Arealen oder zellulären Ablagerungen umgeben. Typisch für die großen Krebszellen ist ein zentral gelegener hyperchromatischer Zellkern, der ein oder zwei kleine Nukleoli und reichlich Karyoplasma enthält. Die spindelförmigen Tumorzellen können sowohl einzeln als auch in zusammenhängenden Verbänden vorkommen. Ebenso wie das Adenokarzinom erscheint auch das Plattenepithelkarzinom makroskopisch grau bis weiß. Außerdem können Einlagerungen von Kohlenstoffpigmenten im Tumorzentrum zu einer Schwarzfärbung führen. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass sich im Tumorrinneren Hohlräume bilden (Brambilla et al. 2001). Plattenepithelkarzinome wachsen vergleichsweise langsam und metastasieren spät (Piper 2007).

#### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

Das Kleinzellige Bronchialkarzinom macht ca. 20 bis 25% aller Bronchialkarzinome aus und ist im Vergleich zu den Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen mit einer sehr schlechten Prognose verbunden (Karges und Dahouk 2009). Bei mehr als 90% aller Kleinzelligen Bronchialkarzinome hat der Krebs zum Diagnosezeitpunkt bereits Metastasen gebildet (Piper 2007). Das Kleinzellige Bronchialkarzinom besteht aus sehr kleinen Tumorzellen mit wenig Zytoplasma und schlecht differenzierbaren Zellgrenzen. Der Zellkern beinhaltet feine Chromatingranula, jedoch keine oder nur sehr unauffällige Nukleoli. Die Zellformen sind sehr variabel: Sie können rund, oval oder spindelförmig sein. Die Tumorzellen liegen sowohl einzeln, als auch linear angeordnet oder verbunden zu einem Synzytium vor. Innerhalb des Tumors sind Zellen in den verschiedensten Mitosestadien zu erkennen, da die Mitoserate beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom enorm gesteigert ist. Die Kern-Plasma-Relation ist sehr hoch und die Zellkerne zeigen irreguläre Formen. Einige Zellkerne weisen ein fein granuliertes und gleichmäßig verteiltes Chromatin auf, welches man auch als *salt and pepper chromatin* bezeichnet. Makroskopisch sind die Kleinzelligen Bronchialkarzinome weiß bis braun sowie weich und bröckelig. Sie wachsen oft in der Nähe der Hili und bilden große Nekroseareale (Brambilla et al. 2001).

#### *Neuroendokrine Tumore*

Neuroendokrine Tumore (NET) der Lunge stellen mit etwa 1-2% eine seltene und heterogene Gruppe der bronchialen Neoplasien dar. Mit einem Anteil von 25% sind die bronchialen neuroendokrinen Tumore nach den gastrointestinalen neuroendokrinen



Tumoren die zweithäufigste neuroendokrine Tumorart (Horsch et al. 2012). Sie stammen aus endokrinen Zellen ab und sind daher in der Lage, Hormone zu produzieren (Siddiqui 2010). Alle bronchialen neuroendokrinen Tumore werden als maligne eingestuft und können Metastasen bilden (Jeung et al. 2002).

Nach Travis et al. (1998) kann man die bronchialen neuroendokrinen Tumore in vier Kategorien unterteilen:

- Typische Karzinoidtumore,
- Atypische Karzinoidtumore,
- Großzellige neuroendokrine Karzinome (LCNEC),
- Kleinzellige neuroendokrine Karzinome (SCNEC).

Das typische Karzinoid ist ein niedrigmaligner Tumor mit einem Durchmesser größer 0,5 cm, ohne Nekrosen, mit grobkörnigem Chromatin und mit weniger als 2 Mitosen pro 2 mm<sup>2</sup>. Die Zellkerne sind gleichförmig und regelmäßig. Beim atypischen Karzinoid findet man 2 bis 10 Mitosen pro 2 mm<sup>2</sup> und kleine punktförmige Nekrosen in der Tumormitte. Das großzellige neuroendokrine Karzinom ist durch mehr als 10 Mitosen pro 2 mm<sup>2</sup>, organoide Strukturen mit rosettenförmiger Zellanordnung, vesikuläres Chromatin und großflächige Nekrosen gekennzeichnet. Die Zellen zeigen klare Zellmembranen und sind etwas größer als beim kleinzelligen neuroendokrinen Karzinom, wobei es beim LCNEC genauso wie beim SCNEC zu Größenunterschieden zwischen den Tumorzellen kommen kann (Naalsund et al. 2011, Rekhtman 2010, Brambilla et al. 2001). Das kleinzellige neuroendokrine Karzinom entspricht dem bereits beschriebenen Kleinzelligen Bronchialkarzinom, welches sich durch eine starke Proliferation vieler kleiner, unterschiedlich geformter Zellen auszeichnet (Rekhtman 2010, Brambilla et al. 2001, Hirsch et al. 1982).

#### 2.1.4 Klinik

Patienten mit Bronchialkarzinomen werden oft erst in späten Krankheitsstadien klinisch auffällig. Unspezifische Symptome wie Husten, Dyspnoe oder Auswurf kennzeichnen das Frühstadium der Erkrankung. Später kommt es zudem zu Fieber, Thoraxschmerzen, Hämoptysen und Gewichtsverlust (Arastéh et al. 2009). Das invasive Tumorwachstum kann zur Rekurrensparese oder zervikalen Sympathikuslähmung führen, woraus Heiserkeit oder ein Horner-Syndrom resultieren können. Ebenso kann es durch

vermehrte Ösophaguskompression zu Symptomen einer Dysphagie kommen (Piper 2007). Die Forscher um Goeckenjan gehen davon aus, dass jeweils ein Drittel der Symptome auf den Primärtumor, systemische Effekte (wie beispielsweise Gewichtsverlust oder Schwäche) oder spezifische Symptome entsprechend dem Metastasierungsort zurückgehen. Häufige Beschwerden, die durch den Primärtumor ausgelöst werden, sind Husten, Dyspnoe, Brustschmerzen, Hämoptysen, Dysphagie oder Stridor. Infolge des intrathorakalen Tumorwachstums kann es zur Beteiligung angrenzender Strukturen wie Nerven, Muskeln, Gefäßen oder viszeraler Organe wie dem Ösophagus kommen. Zusätzlich können durch die Infiltration der Pleura oder eine Rippenmetastasierung Thoraxschmerzen auftreten. Die Metastasierung des Bronchialkarzinoms erfolgt vermehrt in Knochen, Leber, Nebennieren, Gehirn, intraabdominale, supraklavikuläre, zervikale und axilläre Lymphknoten. Folglich sind die Symptome entsprechend der Metastasenlokalisation sehr vielfältig (Goeckenjan et al. 2010). Das Auftreten von Hirnmetastasen kann beispielsweise neurologische Ausfallerscheinungen nach sich ziehen. Starke Schmerzen und häufige Frakturen sind dagegen eher Zeichen einer ossären Metastasierung. Abgrenzend dazu weist ein Verschlussikterus auf vorhandene Lebermetastasen hin (Karges und Dahouk 2009, Piper 2007).

#### 2.1.5 Diagnostik

Zu Beginn jedweder Diagnostik stehen, noch vor den Verfahren der Bildgebung, zunächst die Anamnese und die körperliche Untersuchung des Patienten. Beschreibt der Patient oben genannte Symptome, sollte schnell an ein Bronchialkarzinom gedacht und sofort weitere Untersuchungen veranlasst werden. Dabei müssen zusätzliche Faktoren, wie der Verlauf der Erkrankung, Vorerkrankungen und die Familienanamnese berücksichtigt werden. Weiterhin gilt es, den Tabakkonsum des Patienten und eine mögliche berufliche Schadstoffexposition zu evaluieren. Nach der internistischen Untersuchung sollte außerdem eine Basislaboruntersuchung mit Blutbild, Elektrolytwerten, Nieren- und Leberparametern sowie Gerinnungswerten erfolgen. Eine standardmäßige Bestimmung von Tumormarkern wie CEA, NSE oder CYFRA 21-21 wird nicht empfohlen (Thomas et al. 2000).

*Bildgebung*

Die primäre Tumorerfassung erfolgt gewöhnlich durch eine konventionelle **Röntgenthorax**-Aufnahme in zwei Ebenen. Periphere Bronchialkarzinome zeigen sich im Röntgenbild als periphere Rundschaten mit unscharfer Begrenzung oder Corona radiata (radiäre Streifenzeichnung um den Tumor). Weiterhin deuten Rundherde mit Rigler-Nabelzeichen oder exzentrischen Einschmelzungen auf eine maligne Entität hin. Zentral gelegene Bronchialkarzinome wachsen oft manschettenförmig um den Bronchus und können dort zu Stenosen führen. Mögliche, auf dem Röntgenbild auffällig werdende Folgen der Stenose sind poststenotische Pneumonien oder Atelektasen. Manchmal ist das zentrale Bronchialkarzinom auch durch einen nach lateral konvex vergrößerten Hilus oder, infolge der Infiltration der Lymphangien, als hilifugale Streifenzeichnung erkennbar. Neben dem Primärtumor kann man auch mögliche Metastasierungszeichen im Röntgenthorax erkennen. Beispiele hierfür sind: Pleuraergüsse, vergrößerte mediastinale Lymphknoten, Ösophagusstenosen, Kompressionen der Vena cava oder ein Zwerchfellhochstand aufgrund einer Phrenicusparese (Wetzke und Happel 2009, Brambilla et al. 2001). Bei positivem, aber auch bei negativem Befund mit vorhandener Klinik sollte eine weiterführende Diagnostik angeschlossen werden (Goeckenjan et al. 2010).

Das Staging des Bronchialkarzinoms erfolgt mit Hilfe einer kontrastmittelverstärkten **Computertomographie** (CT) von Thorax und Abdomen. Die CT gibt genauere Angaben über die Größe und Lage der Läsion und muss deshalb immer vor einer invasiven Maßnahme, wie einer Bronchoskopie oder Mediastinoskopie, stattfinden. Ebenso kann mittels CT die Metastasierung des Tumors in mediastinale Lymphknoten oder andere Organe beurteilt werden (Goeckenjan et al. 2010). Das Bronchialkarzinom selbst zeigt sich im CT als weichteildichter, unscharfer Rundherd mit zum Teil nekrotischen Arealen und Inhomogenität. Jedoch kann die Diagnose eines malignen Rundherdes nicht allein mit der CT gestellt werden, da zwar deren Sensitivität ausgesprochen hoch, aber die Spezifität nur sehr gering ist (Wahidi et al. 2007). Durch die genaue Angabe von Tumor- und Lymphknotengröße sowie des Ausmaßes der Metastasierung spielt die CT eine wichtige Rolle beim Staging der Patienten entsprechend der TNM-Klassifikation.

Im Rahmen der Detektion und des Stagings eines Bronchialkarzinoms wird zusätzlich eine **Magnetresonanztomographie** (MRT) mit intravenösem Kontrastmittel

durchgeführt. Die Ergebnisse einer MRT des Thorax sind vergleichbar mit denen einer CT. Durch den hohen Weichgewebekontrast der MRT lassen sich die Beziehung der Läsion zu Thoraxwand und Mediastinum und eine mögliche Infiltration besser als mit einer CT abschätzen. Zur Detektion von Hirnmetastasen ist die MRT das Verfahren der Wahl und der CT deutlich überlegen (Goeckenjan et al. 2010).

Die **Positronenemissionstomographie** (PET) stellt ein nicht-invasives Schnittbildverfahren dar, welches durch intravenöse Gabe von Radiopharmaka wie Fluordesoxyglucose (FDG) biochemische Prozesse im Körper darstellt. Durch den gesteigerten Glukosemetabolismus im Tumor reichern sich große Mengen des radioaktiv markierten Glukoseanalogons FDG im Tumorgewebe an, das mittels FDG-PET abgebildet werden kann. Neben dem Tumor speichern zudem Metastasen und infiltrierte Lymphknoten den radioaktiv markierten FDG-Liganden und werden dadurch sichtbar. Die FDG-PET ist ein wichtiger Bestandteil des Stagings und kann auch Fernmetastasen aufdecken, die bei den bisherigen diagnostischen Verfahren unerkannt blieben. Eine technische Weiterentwicklung stellt die **PET/CT** dar, welche gleichzeitig eine PET- und eine CT-Aufnahme vom Patienten anfertigt. So lässt sich die hohe Sensitivität der PET mit der genauen anatomischen Auflösung der CT verknüpfen und die Tumor- und Metastasenlokalisation genauer bestimmen (Goeckenjan et al. 2010). Fischer und Kollegen bescheinigen der PET/CT eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 78%. Die verminderte Spezifität rührt daher, dass sich FDG auch in entzündeten Geweben anreichert und es somit zu falsch-positiven Befunden kommen kann (Fischer et al. 2001). FDG-PET und FDG-PET/CT weisen beim Auffinden von Fernmetastasen und infiltrierten Lymphknoten eine höhere diagnostische Genauigkeit als die herkömmliche CT auf. Bei der FDG-PET können im Rahmen einer nicht-invasiven Ganzkörperuntersuchung sowohl der Primärtumor als auch alle Metastasen dargestellt werden. Dadurch bleiben dem Patienten unnötige Untersuchungen wie eine Knochenszintigraphie oder eine Bronchoskopie erspart (Goeckenjan et al. 2010). Die Forscher um Ung fanden in ihrer Analyse durch das FDG-PET bei 15% aller Patienten weitere Metastasen, die durch die vorangegangene Diagnostik nicht erkannt worden waren (Ung et al. 2007). Weber et al. zeigten in ihrer Metaanalyse, dass sich durch eine zusätzliche FDG-PET-Untersuchung bei 20% der Patienten das Tumorstadium verändert (Weber et al. 2003). Weiterhin ist die FDG-PET bezüglich Sensitivität und Spezifität der Knochenszintigraphie überlegen. Hinsichtlich der Detektion von

Hirnmetastasen ist die FDG-PET der CT oder MRT jedoch unterlegen (Goeckenjan et al. 2010). Zum Nachweis von Lokalrezidiven und Fernmetastasen eignet sich die FDG-PET in besonderem Maße. Keidar und Kollegen verweisen in ihrer Studie auf eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 89% (Keidar et al. 2004).

### *Histopathologie*

Die Gewinnung einer Gewebeprobe kann auf verschiedene Arten erfolgen, wie beispielsweise durch Bronchoskopie, transbronchiale Biopsie, Mediastinoskopie, transkutane Lungenbiopsie oder Thorakotomie. Die Histologie spielt besonders bei der Unterscheidung zwischen Kleinzelligem und Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom eine entscheidende Rolle. Die sichere Differenzierung zwischen den histologischen Subtypen ist aufgrund der verschiedenen Therapiearten äußerst wichtig (Piper 2007).

Die **Bronchoskopie** ist die wichtigste Methode zur Diagnosesicherung, da mit ihrer Hilfe Gewebeproben direkt aus der Läsion entnommen werden können. Bei Patienten mit Verdacht auf ein Bronchialkarzinom sollten alle Lymphknoten, die größer als 2 cm sind, durch eine Bronchoskopie biopsiert werden. Vor deren Durchführung ist die genaue Lokalisation des Bronchialkarzinoms mit Hilfe einer CT zu bestimmen. Weiterhin kann mit Hilfe eines **endobronchialen Ultraschalls** eine präzise Darstellung und Punktion des Karzinoms erreicht werden (Goeckenjan et al. 2010). Zentrale Tumore lassen sich besonders gut punktieren, bei peripheren Tumoren hängt die Qualität der Punktion von der Größe des Rundherds ab (Xie et al. 2002). Die Entstehung eines Pneumothorax (bei 1 bis 4% der untersuchten Patienten) und leichte Hämorrhagien sind die Hauptkomplikationen einer Bronchoskopie (Goeckenjan et al. 2010). Neben der diagnostischen Sicherung des Tumors kann die Bronchoskopie zudem therapeutisch eingesetzt werden, zum Beispiel zur lokalen Blutstillung bei Hämoptysen oder beim Einsetzen von Stents nach luminaler Infiltration durch den Tumor (Arastéh et al. 2009). Durch Biopsien gewonnene Gewebeproben werden anschließend auf folgende pathologische Kriterien hin untersucht:

- Klassifikation des Lungentumortyps,
- Bestimmung der Tumorgöße,
- Beurteilung der Resektionsränder,
- Bestimmung der Tumordifferenzierung (Grading),
- Bestimmung von Tumormarkern,

- Bestimmung von Prognose-assoziierten Markern (Goeckenjan et al. 2010).

Zur histologischen und zytologischen Charakterisierung der Lungentumore können diese, entsprechend des Gratings, in die Stufen G1 bis G4 unterteilt werden:

- G1: gut differenziertes Tumorgewebe, hohe Übereinstimmung mit dem Ursprungsgewebe,
- G2: mäßig differenziertes Tumorgewebe,
- G3: schlecht differenziertes Tumorgewebe,
- G4: undifferenziertes Tumorgewebe (Boecker et al. 2004).

Plattenepithel- und Adenokarzinome entsprechen den histologischen Differenzierungsgraden G1 bis G3. Kleinzellige Bronchialkarzinome werden als G4, also undifferenziert, eingestuft (Travis et al. 2004).

### *Staging*

Um für jeden Patienten mit Bronchialkarzinom eine passende Therapiestrategie wählen zu können, wird dieser zunächst anhand der TNM-Klassifikation eingestuft (siehe Tabelle 1 und Tabelle 2). Zusätzlich kann mit dieser Stadieneinteilung auch die Prognose des Patienten abgeschätzt werden. Patienten, für die nur noch eine palliative Therapie in Frage kommt, sollten keinem Staging unterzogen werden, da dies für sie keinerlei therapeutische Konsequenz hätte. Zur Beurteilung des Primärtumors ist die kontrastmittelverstärkte CT-Untersuchung von Thorax und Oberbauch inklusive Leber und Nebenniere am besten geeignet. Wenn der Tumor das Mediastinum oder mediastinale Organe infiltriert hat, reicht eine CT allein nicht mehr aus. Hier müssen zusätzlich eine Thorax-Sonographie und eine MRT erfolgen, da mit ihnen die Weichteilinfiltration wesentlich besser eingeschätzt werden kann (Goeckenjan et al. 2010). Ebenso sollte vor Beginn der Behandlung der Lymphknotenbefall evaluiert werden. Das FDG-PET kann dabei zur Beurteilung thorakaler und extrathorakaler Lymphknoten eingesetzt werden. Die Bestätigung einer mediastinalen Lymphknotenmetastasierung kann mittels endobronchialen Ultraschall mit Nadelbiopsie, ösophagealem Ultraschall mit Nadelbiopsie, bronchoskopischer Nadelbiopsie, transthorakaler Nadelbiopsie und Mediastinoskopie erbracht werden. Im Falle eines auffälligen klinischen Untersuchungsbefundes (z. B. neurologische Ausfälle), sollte der Patient auf Fernmetastasen hin untersucht werden. Hierbei liefern

das Ganzkörper-FDG-PET und eine Schädel-MRT die besten Ergebnisse (Goeckenjan et al. 2010).

**Tabelle 1:** TNM-Klassifikation des Bronchialkarzinoms (nach Karges 2009)

<b>T</b>	<b>Primärtumor</b>
<b>Tx</b>	Primärtumor kann nicht beurteilt werden oder Nachweis von malignen Zellen im Sputum oder bei Bronchialspülungen, jedoch Tumor weder radiologisch noch bronchoskopisch sichtbar
<b>T0</b>	kein Anhalt für Primärtumor
<b>Tis</b>	Carcinoma in situ
<b>T1</b>	Tumordurchmesser $\leq 3$ cm ohne Beteiligung des Hauptbronchus
<b>T2</b>	Tumordurchmesser $> 3$ cm oder Beteiligung des Hauptbronchus $\geq 2$ cm distal der Carina / Invasion der viszeralen Pleura / partielle Atelektase / obstruktive Pneumonitis
<b>T3</b>	direkte Invasion der Brustwand / des Zwerchfells / der mediastinalen Pleura / des parietalen Perikards oder Beteiligung des Hauptbronchus $< 2$ cm distal der Carina (ohne Befall der Carina) oder Totalatektase eines Lungenflügels
<b>T4</b>	direkte Invasion des Mediastinums / des Herzens / der großen Gefäße / der Trachea / des Ösophagus / der Wirbelkörper / der Carina, Tumormetastase im gleichen Lungenlappen oder maligner Pleura- bzw. Perikarderguss
<b>N</b>	<b>Lymphknotenbefall</b>
<b>Nx</b>	Lymphknotenbefall kann nicht beurteilt werden
<b>N1</b>	ipsilateraler peribronchialer und / oder hilärer Lymphknotenbefall
<b>N2</b>	ipsilateraler mediastinaler und / oder subcarinaler Lymphknotenbefall
<b>N3</b>	Lymphknotenbefall kontralateral mediastinal / kontralateral hilär / ipsi- oder kontralateral tief zervikal / supraklavikulär
<b>M</b>	<b>Metastasierung</b>
<b>Mx</b>	das Vorliegen von Metastasen kann nicht beurteilt werden
<b>M0</b>	keine Fernmetastasen vorhanden
<b>M1</b>	Fernmetastasen

**Tabelle 2:** UICC-Stadien des Bronchialkarzinoms (nach Karges 2009)

<b>Stadium</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>Ia</b>	T1	N0	M0
<b>Ib</b>	T2	N0	M0
<b>IIa</b>	T1	N1	M0
<b>IIb</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIa</b>	T3	N1	M0
	T1-3	N2	M0
<b>IIIb</b>	T1-3	N3	M0
	T4	N0-3	M0
<b>IV</b>	T1-4	N0-3	M1

Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom können ebenso durch die TNM-Klassifikation beschrieben werden. Weiterhin gibt es dort die Unterscheidung in „limited“ und „extensive disease“. Die „limited disease“ (nach UICC: T3–4, N0–1, M0 und T1–4, N2–3, M0) kennzeichnet sich dadurch aus, dass sich Tumorwachstum und Lymphknotenbefall auf den Thorax beschränken. Im Gegensatz dazu sind bei der „extensive disease“ (nach UICC: alle Stadien mit M1) bereits lungenferne Organe betroffen (Goeckenjan et al. 2010).

#### 2.1.6 Prognose

Die 1-Jahres-Überlebensrate (1-J-ÜLR) bei Lungenkrebs beträgt nach McErlean und Kollegen derzeit ca. 42%, wohingegen sich die 5-Jahres-Überlebensrate (5-J-ÜLR) auf nur 16% beläuft. Die Überlebenszeit schwankt jedoch bei den einzelnen Patienten stark und ist davon abhängig, in welchem Krankheitsstadium das Bronchialkarzinom diagnostiziert wurde. So beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate bei lokal wachsendem Bronchialkarzinom (Stadium I) 53%, bei metastasiertem Bronchialkarzinom (Stadium IV) lediglich 4%. Ebenso sind die verschiedenen histologischen Untertypen mit unterschiedlichen 5-J-ÜLR verbunden: 17% der Patienten mit Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom erleben das fünfte Jahr nach der Diagnosestellung. Eine schlechtere Prognose erwartet Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom: Hier liegt die 5-J-ÜLR bei gerade einmal 6%. Alles in allem ist die Prognose für Patienten mit Bronchialkarzinom sehr schlecht, wobei Frauen unabhängig vom Alter oder



histologischen Typ des Karzinoms oftmals eine bessere Prognose haben als Männer. McErlean und Ginsberg fanden bei Frauen eine 19%-ige 5-J-ÜLR, während die der Männer nur bei 14% lag (McErlean und Ginsberg 2011).

### 2.1.7 Therapie

Bei der Auswahl der richtigen Therapiestrategie für jeden einzelnen Patienten ist es wichtig, zwischen Kleinzelligem und Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom zu unterscheiden.

#### Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom

Vor jedem Therapiebeginn muss der Patient zunächst innerhalb der TNM-Klassifikation eingestuft werden, da es für die einzelnen Stadien verschiedene Therapieansätze gibt.

#### *Stadium Ia (T1,N0,M0) und Ib (T2,N0,M0)*

Die operative Entfernung des Tumors mit regionaler Lymphknotendisektion stellt bei Patienten mit frühem Tumorstadium die Therapie der Wahl dar. Präoperativ gilt es zunächst das Operationsrisiko für den einzelnen Patienten abzuschätzen. Hierbei sollte zusätzlich die Lungenfunktion gemessen werden. Eine koronare Herzerkrankung, periphere Durchblutungsstörungen und zerebrovaskuläre Erkrankungen stellen ein perioperatives Risiko dar. Als operatives Standardverfahren gilt die Lobektomie mit ipsilateraler Lymphknotendisektion. Ebenso besteht bei kleinen, peripher gelegenen Tumoren die Möglichkeit einer Keil- oder Segmentresektion („limited resection“). Diese weniger invasive Methode ist besonders für Patienten mit vielen Komorbiditäten oder schlechter Lungenfunktion geeignet (Goeckenjan et al. 2010). Ginsberg und Rubinstein beschreiben jedoch nach 5 Jahren ein bis zu dreifach erhöhtes Rezidivrisiko bei Patienten, deren Bronchialkarzinom mit Hilfe einer „limited resection“ entfernt wurde (Ginsberg und Rubinstein 1995). Als Goldstandard jeder Therapie gilt die R0-Resektion, die vollständige Entfernung jedweden Tumorgewebes. Bei einer R1- oder R2-Situation, also einer unvollständigen Resektion, sollte, wenn möglich, eine Nachresektion mit dem Ziel einer R0-Situation angestrebt werden. Eine postoperative Chemotherapie bringt eine signifikante Verlängerung des Überlebens mit einem Anstieg der 5-J-ÜLR von 4,1 auf 15 % und eine Zunahme des tumorfreien Überlebens. Liegen Kontraindikationen für eine Operation vor oder sollte der Patient wegen einer

eingeschränkten kardiorespiratorischen Funktion nicht operabel sein, wird der Primärtumor durch eine Radiotherapie kurativ behandelt. Die Dosis liegt bei 60 Gy (Einzelfraktion 1,8 - 2 Gy), verteilt über sechs Wochen. Für eine zusätzliche Chemotherapie gibt es im Stadium Ia und Ib keine Indikation (Goeckenjan et al. 2010, Becker et al. 2004).

*Stadium IIa (T1,N1,M0) und Stadium IIb (T2,N1,M0; T3,N0,M0)*

Auch für Patienten im Tumorstadium II stellt die operative Tumorentfernung mit Lymphknotendisektion die Therapie der ersten Wahl dar. Bei einer Infiltration der Pleura sollte die Resektion en-bloc mit einem Resektionsrand von 2-3 cm erfolgen. Im Falle einer R1- oder R2-Situation kann der Patient postoperativ eine Radiotherapie erhalten, bei T3-Tumoren kann eine adjuvante Bestrahlung von Nutzen sein. Voraussetzung für eine Radiotherapie sind ein guter Allgemeinzustand und eine adäquate Lungenfunktion des Patienten (Becker et al. 2004). Nach erfolgter R0-Resektion sollten die Patienten im Stadium II einer postoperativen adjuvanten Chemotherapie unterzogen werden. Ist eine Operation aufgrund eines schlechten Allgemeinzustandes des Patienten nicht möglich, kann der Primärtumor auch im Stadium II durch eine Radiotherapie behandelt werden (Goeckenjan et al. 2010).

*Stadium IIIa (T3,N1,M0; T1-3,N2,M0)*

Inoperable Patienten im Stadium IIIa werden mit einer Radiochemotherapie behandelt. Bei den operablen Patienten entscheidet der Lymphknotenstatus über das therapeutische Vorgehen. Patienten mit N1-Lymphknotenbefall werden operiert und erhalten im Gegensatz zu Patienten mit N2-Lymphknotenbefall keine postoperative neoadjuvante Radiochemotherapie. Zusätzlich sollte bei Patienten mit N2-Lymphknotenstatus und mediastinalem Lymphknotenbefall die Notwendigkeit einer mediastinalen Bestrahlung geprüft werden (Becker et al. 2004).

*Stadium IIIb (T1-4,N3,M0; T4,N1-3,M0)*

Nicht-resezierbare Tumore werden hier mit einer Radiotherapie oder kombinierten Radiochemotherapie behandelt. Liegt ein resezierbarer Tumor bei einem Patienten mit sehr gutem Allgemeinzustand vor, kann dieser operiert werden. Präoperativ sollte bei solchen Patienten eine neoadjuvante Chemo- oder Radiochemotherapie und postoperativ eine Radiotherapie erfolgen (Becker et al. 2004).

*Stadium IV (T1-4,N1-3,M1)*

Der Einsatz der Chemotherapie hat im Stadium IV des Bronchialkarzinoms lediglich eine palliative Wirkung, da sie zur Schmerzlinderung beiträgt und damit die Lebensqualität der Patienten verbessert. Besonders Patienten mit gutem Allgemeinzustand profitieren von der Chemotherapie. Weiterhin spielt die Radiotherapie, die Operation einzelner Metastasen, die Therapie lokaler Komplikationen und die supportive Behandlung im Rahmen des palliativen Therapiekonzepts eine wichtige Rolle. Auch während der Therapie sollten die Patienten in sechswöchigen Intervallen untersucht werden, um eine Verschlechterung der Symptomatik frühzeitig erkennen und behandeln zu können (Goeckenjan et al. 2010, Becker et al. 2004).

Eine palliative Operation kann bei Patienten mit fortgeschrittenem Bronchialkarzinom zur Steigerung der Lebensqualität führen. Indikationen für diese sind beispielsweise massive Hämoptysen, Schmerzzustände, rezidivierende maligne Ergussbildungen, eine erhebliche Dyspnoe oder eine metastatische Myelonkompression. Palliative Operationen sind Einzelfallentscheidungen und bedürfen einer interdisziplinären Abklärung (Goeckenjan et al. 2010).

Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Unbehandelt liegt die mittlere Überlebenszeit bei Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom bei etwa drei Monaten nach Diagnosestellung. Durch den Einsatz entsprechender Therapien kann das mittlere Überleben bei metastasierter Erkrankung auf 8 bis 12 Monate und bei nicht-metastasierter Erkrankung sogar auf 14 bis 20 Monate erhöht werden. Entsprechend der Einteilung der Kleinzelligen Bronchialkarzinome in „limited“ und „extensive disease“ erfolgt die Wahl der Therapie. Als wichtigste Therapiemaßnahme gilt die Durchführung einer Kombinationschemotherapie, die sofort nach Diagnosestellung eingeleitet werden sollte. Hierbei werden mehrere verschiedene Chemotherapeutika zusammen verwendet. Wenn ein Patient nicht auf die Chemotherapie anspricht und das Tumorwachstum weiter zunimmt, muss er umgehend auf ein anderes Medikament umgestellt werden. Kleine Tumore (T1-2) können zudem operativ entfernt werden. Im Anschluss sollte jedoch immer eine postoperative adjuvante Chemotherapie erfolgen. Im Vorfeld des operativen Eingriffs erfolgt der Ausschluss einer mediastinalen Lymphknoteninfiltration mithilfe eines FDG-PET. Im Falle einer unvollständigen Tumoresektion (R1/2) wird eine zusätzliche

Mediastinalbestrahlung empfohlen. Sollte eine Operation nicht möglich sein, kann das Kleinzellige Bronchialkarzinom auch durch eine primäre Chemotherapie behandelt werden (Goeckenjan et al. 2010).

#### *Limited disease (T3-4,N2-3,M0)*

Patienten mit bestrahlungsfähiger Primärtumorausdehnung ohne Fernmetastasierung sollten eine Bestrahlung der Primärtumorregion und eine gleichzeitige Chemotherapie mit Cisplatin und Etoposid erhalten. Bei älteren Patienten oder Patienten mit eingeschränktem Allgemeinzustand werden Chemotherapie und Bestrahlung jedoch nacheinander durchgeführt. Nach Abschluss der Chemotherapie folgt eine prophylaktische Bestrahlung des Schädels, um der Entstehung von Hirnmetastasen vorzubeugen (Goeckenjan et al. 2010).

#### *Extensive disease*

Patienten im Stadium „extensive disease“ besitzen Fernmetastasen und sollten daher primär mit einer Chemotherapiekombination aus Carboplatin und Etoposid behandelt werden, da eine Monotherapie mit Carboplatin oder Etoposid gegenüber der Kombinationstherapie mit einer Verminderung der Remissionsrate, einer Verschlechterung der Symptome sowie einer verkürzten Lebenszeit verbunden ist. Deshalb sollte, wenn möglich, auf eine Monotherapie verzichtet werden. Patienten mit Hirnmetastasen müssen schnellstmöglich bestrahlt werden, wobei die Bestrahlung parallel zur Chemotherapie stattfindet (Goeckenjan et al. 2010).

#### *Allgemeine Therapiemaßnahmen*

Neben der Tumor-spezifischen Behandlung spielt die supportive Therapie bei der Behandlung des Kleinzelligen und des Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinoms eine wichtige Rolle. Ziel der supportiven Therapie ist es, tumorbedingte Symptome zu lindern und Probleme, die durch die Erkrankung und deren Therapie entstehen, zu lösen. Beispiele für eine solche supportive Therapie sind:

- Gabe einer antiemetischen Prophylaxe,
- Behandlung einer entstandenen Anämie
- Behandlung von Hautreaktionen bei Strahlentherapie,
- Ernährungsberatung,
- ärztliche Beratung,

- Erlernen von Entspannungsverfahren (Goeckenjan et al. 2010).

Neben der supportiven spielt die palliative Therapie in fortgeschrittenen Krebsstadien ebenso eine zentrale Rolle. Wesentliche Elemente der palliativen Therapie sind Folgende:

- Verringerung von Dyspnoe,
- Linderung der Schmerzen,
- Vermeidung von Kachexie oder Dysphagie,
- Therapie von Husten und Heiserkeit,
- Therapie von Übelkeit und Erbrechen,
- Intervention bei Hämoptysen,
- Vermeidung neurologischer Symptome,
- Betreuung im Terminalstadium (Goeckenjan et al. 2010).

## 2.2 Chemokine

### 2.2.1 Aufbau und Klassifikation der Chemokine

Chemokine sind 8-14 kDa große Proteine, die die größte Untergruppe der Zytokine bilden. Die Hauptaufgabe der Chemokine besteht darin, den Zellen des Immunsystems eine Art Navigationshilfe zu bieten. Man bezeichnet diese gerichtete Bewegung der Immunzellen entlang eines chemischen Gradienten als Chemotaxis. Hierbei bewegen sich die Immunzellen auf den Ort der höchsten Chemokinkonzentration zu (Rink et al. 2012). Bisher fand man beim Menschen etwa 50 verschiedene Chemokine, wobei diese anhand ihrer Funktion in zwei Gruppen unterteilt werden: zum einen in die inflammatorischen Chemokine und zum anderen in die homöostatischen Chemokine (Yoshie 2013). Die homöostatischen Chemokine werden auch als konstitutive Chemokine bezeichnet, da sie von einigen wenigen Geweben des menschlichen Körpers ständig produziert werden und somit die Voraussetzung dafür schaffen, dass die einzelnen Immunzellen zwischen den Organen des Menschen wandern und dabei auch an ihr Ziel gelangen können. Die Zellen des Immunsystems benötigen dazu auf ihrer Oberfläche den entsprechenden Chemokinrezeptor, um die Chemokine auch binden zu können. Diese homöostatischen Chemokine beeinflussen besonders Lymphozyten und Dendritische Zellen. Die Chemokine besitzen die Eigenschaft, an Endothelzellen oder an die Zellmembranen von Zellen im Gewebe zu binden. Dadurch wird verhindert, dass

der Konzentrationsgradient zu leicht beeinflusst werden kann und beispielsweise zu schnell verdünnt oder ausgespült wird. Im Gegensatz dazu werden die inflammatorischen Chemokine nur im Rahmen einer Entzündungsreaktion gebildet, um besonders Leukozyten, Monozyten oder eosinophile Granulozyten an den Ort der Schädigung zu locken. Dieser Chemokingradient besteht also nur für eine kurze Zeit und wird später wieder zurück reguliert (Rink et al. 2012). Neben der funktionellen Einteilung kann man die Chemokine auch aufgrund ihres Aufbaus in vier verschiedene Gruppen gliedern. Alle Chemokine besitzen an ihrem N-Terminus vier Cysteinreste, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Entsprechend der Anordnung der ersten beiden Cysteinreste am N-Terminus ergeben sich folgende Chemokingruppen: C, CC, CXC, CXXXC. Das C steht für einen Cysteinrest und das X für einen beliebigen Aminosäurerest zwischen den Cysteinresten. Demnach liegen bei den CC-Chemokinen die beiden Cysteinreste direkt nebeneinander, wohingegen bei den CXC-Chemokinen beide Cysteinreste durch eine Aminosäure getrennt werden. Bei den CXXXC-Chemokinen (oder auch CX<sub>3</sub>C) befinden sich drei Aminosäuren zwischen den beiden Cysteinmolekülen. C-Chemokine enthalten nur einen Cysteinrest (Fernandez und Lolis 2002, Chensue 2001). Nach Chensue und Kollegen (2001) sind fast alle Organe des menschlichen Körpers dazu in der Lage, Chemokine zu bilden. Weiterhin scheinen einige Chemokine nur in bestimmten Organen exprimiert zu werden, was darauf hin deutet, dass sie eine bestimmte organspezifische Funktion ausüben. Nur vereinzelte Zellen, wie beispielsweise monozytäre Phagozyten, können verschiedene Chemokine produzieren.

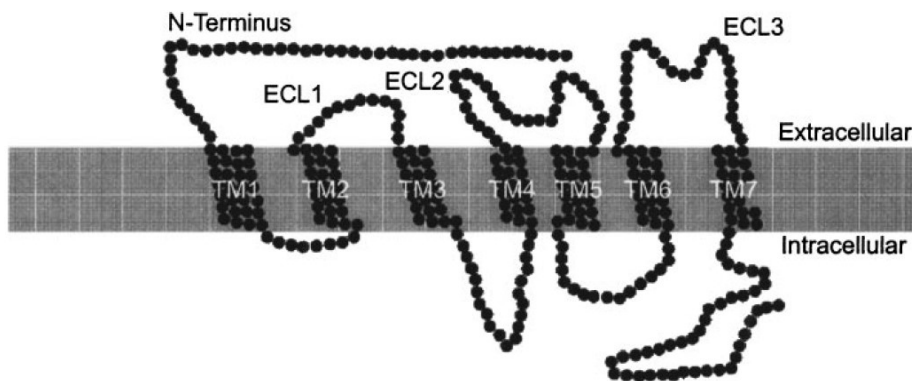
### 2.2.2 Das Chemokin SDF-1

SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), oder auch CXCL-12 genannt, zählt zu den konstitutiven Chemokinen und hat eine Masse von 8 kDa. Es bindet an die Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 und spielt besonders bei der Chemotaxis der T-Zellen, Monozyten und der lymphatischen sowie hämatopoetischen Vorläuferzellen eine große Rolle. Die Forscher um Nagasawa et al. (1996) fanden heraus, dass Mäuse, die kein SDF-1 exprimieren, nicht lebensfähig sind, da sie starke Defekte bei der Hämatopoese und Lymphopoese aufweisen. Es konnte zudem gezeigt werden, dass das Zusammenspiel von SDF-1 und CXCR4 eine wichtige Rolle bei verschiedensten entzündlichen Prozessen im menschlichen Körper spielt. So steigt beispielsweise der SDF-1-Spiegel

in den biliären Epithelzellen und im Plasma bei entzündlichen Lebererkrankungen im Vergleich zur gesunden Leber deutlich an (Balkwill 2004b). Neben der Expression in Normalgewebe wurde das Chemokin SDF-1 auch bei einigen Tumoren, wie Lymphomen, Gliomen, Pankreaskarzinomen und Ovarialkarzinomen, entdeckt. Weiterhin beeinflusst das SDF-1 auch das Wachstum und Überleben von Tumorzellen, indem es CXCR4-tragende Tumorzellen positiv beeinflusst. Allerdings ist insgesamt über die Rolle von SDF-1 bei malignen Erkrankungen bisher nur wenig bekannt (Balkwill 2004a).

## 2.3 Chemokinrezeptoren

Die Chemokinrezeptoren befinden sich in der Doppellipidschicht der Zellmembran, besitzen die für G-Protein-gekoppelte Rezeptoren typischen sieben Transmembraneinheiten und bilden die Bindungsstelle für die Chemokine (siehe Abbildung 1) (Fernandez und Lolis 2002). Die Rezeptoren bestehen aus 320 bis 380 Aminosäuren und weisen sowohl intrazellulär als auch extrazellulär jeweils drei Schleifen auf (Chensue 2001).



**Abbildung 1:** Aufbau eines Chemokinrezeptors (nach Fernandez und Lolis (2002)); TM: Transmembraneinheit, ECL: extracellular loop

Die Namensgebung der Rezeptoren richtet sich nach den Chemokinen, die an sie binden. Demnach heißt ein Chemokinrezeptor, an den ein CXC-Chemokin bindet, CXCR. Folglich bindet der CCR ausschließlich CC-Chemokine. Am Carboxy-Terminus der Chemokinrezeptoren im Zellinneren befindet sich ein G-Protein, weshalb sie zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gezählt werden. Bindet extrazellulär ein Chemokin an seinen Rezeptor, kommt es am C-terminalen Ende des

Rezeptors zur Aktivierung des G-Proteins, das aus drei Untereinheiten ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) besteht. Das am  $\alpha$ -Monomer gebundene GDP wird durch ein GTP-Molekül ausgetauscht, wodurch es zur Aktivierung der  $\alpha$ -Untereinheit kommt. Daraufhin spaltet sich das aktivierte  $\alpha$ -Monomer vom  $\beta\gamma$ -Dimer ab. Sobald das GTP später wieder zu GDP hydrolysiert wird, binden alle drei Untereinheiten wieder aneinander. Die aktivierten Untereinheiten spielen eine wichtige Rolle in den verschiedenen Signalkaskaden der Zelle (Chensue 2001), welche später am Beispiel des CXCR4 genauer dargestellt werden.

## 2.4 Der Chemokinrezeptor CXCR4

### 2.4.1 Aufbau und Funktion des CXCR4

Das CXCR4-Rezeptorprotein ist der wohl am besten erforschte Chemokinrezeptor, da er als Co-Rezeptor beim Eintritt des HI-Virus in die CD4-positive Zellen eine wichtige Rolle spielt. Das 352 Aminosäuren lange Protein zählt zu den G-Protein gekoppelten Rezeptoren und besitzt sieben Transmembrandomänen. Physiologischerweise werden große Mengen an CXCR4 auf hämatopoetischen Stammzellen, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Niere, Lunge, Leber, Gehirn, Kolon, Milz, Thymus, Lymphknoten, Hypophyse und Nebenniere exprimiert, wobei dem Rezeptor eine wichtige Rolle bei der Hämatopoese, Organogenese und Vaskularisation zugesprochen wird (Furusato et al. 2010, Teicher und Fricker 2010).

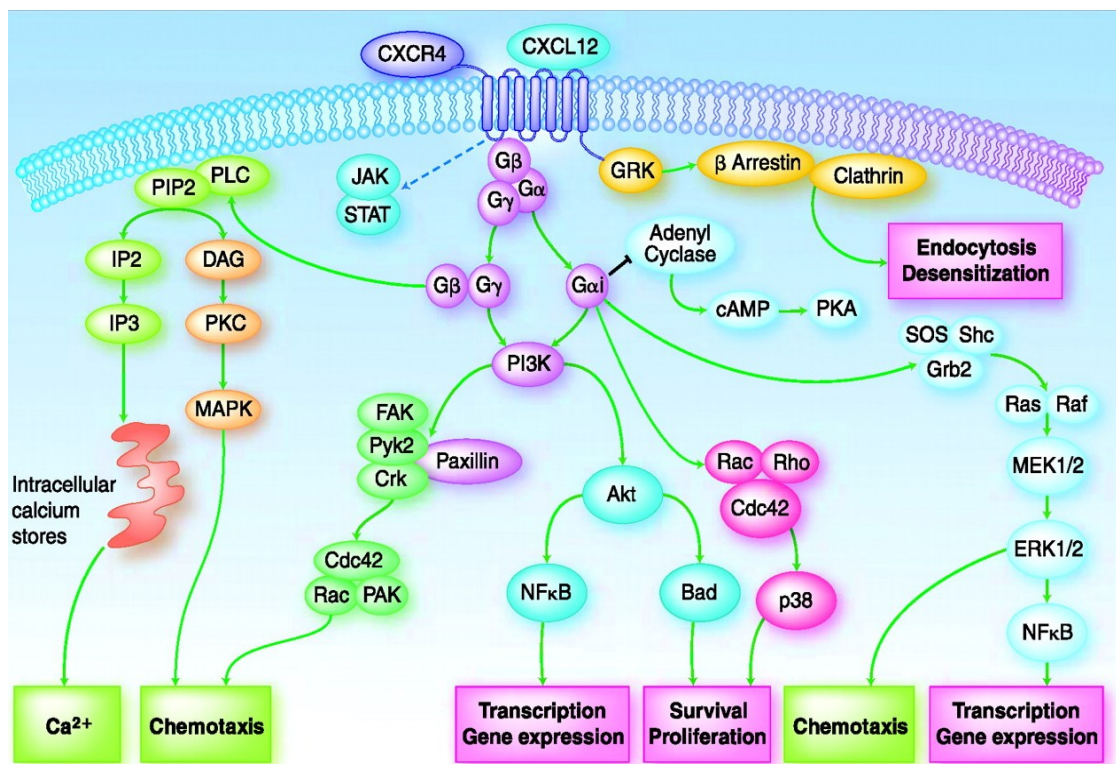
Der einzige bisher bekannte endogene Ligand für den CXCR4 ist das Chemokin SDF-1 (oder CXCL12), welches vor allem in Lunge, Leber, Skelettmuskel, Gehirn, Niere, Herz, Haut und Knochenmark gebildet wird. Die CXCR4-positiven Zellen bewegen sich, entsprechend dem SDF-1-Gradienten, in die verschiedenen Gewebe. Hierbei spricht man von Chemotaxis, also der Beeinflussung der Fortbewegungsrichtung entlang eines Konzentrationsgradienten (Teicher und Fricker 2010, Balkwill 2004a). Die Motilität der jeweiligen Zelle entsteht durch eine gesteigerte Aktinpolymerisation, welche wiederum durch die Bindung von SDF-1 an den CXCR4 ausgelöst wird (Müller et al. 2001).



#### 2.4.2 Der Signaltransduktionsweg des CXCR4

Die Bindung von SDF-1 an den CXCR4 führt zu dessen Dimerisierung und zur Aktivierung des heterotrimeren G-Proteins im Zellinneren (siehe Abbildung 2). Das G-Protein besteht wiederum aus einer  $G\alpha$ -,  $G\beta$ -, und  $G\gamma$ -Einheit. Die  $G\alpha$ -Einheit bindet im nicht-aktivierten Zustand das Guaninnukleotid GDP, welches bei der Aktivierung des Rezeptors durch ein Molekül GTP ausgetauscht wird. Durch die Bindung des GTP wird der heterotrimere Komplex instabil und das  $G\alpha$ -Monomer löst sich vom  $G\beta\gamma$ -Dimer. Kommt es zur Hydrolyse des GTP zu GDP, lagern sich  $G\alpha$ - und  $G\beta\gamma$ -Einheit wieder zum Trimer zusammen, welches zurück an den membranständigen Rezeptor bindet (Teicher und Fricker 2010). Man unterscheidet verschiedene  $G\alpha$ -Untereinheiten ( $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_i$ ,  $G\alpha_q$ ,  $G\alpha_{12}$ ), die wiederum an verschiedene Proteine binden und unterschiedliche intrazelluläre Signalwege aktivieren können. Beispielsweise stimuliert die  $G\alpha_s$ -Untereinheit die Adenylatcyclase innerhalb der Zelle, wohingegen  $G\alpha_i$  diese inhibiert. Die Aktivierung der Adenylatcyclase führt dann zu einem Anstieg von cAMP, welches die Proteinkinase A stimuliert. Die  $G\alpha_q$ -Untereinheit bewirkt, über eine Aktivierung der Phospholipase C, einen Anstieg von Inositoltriphosphat (IP3) und 1,2-Diacylglycerin (DAG), die in der Zelle als second-messenger dienen und den intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Spiegel steigen lassen, wodurch wiederum weitere Proteinkinasen angeschaltet werden. Die  $G\alpha_q$ -Untereinheit führt über die Aktivierung der Protein-Tyrosin-Kinase 2 zur Stimulation des Transkriptionsfaktors NF $\kappa$ B. Weiterhin wird die  $G\alpha_{12}$ -Untereinheit mit den Proteinen Ras und Rho in Verbindung gebracht. Am CXCR4 ist meist eine  $G\alpha_i$ -Einheit gebunden, wobei davon ausgegangen wird, dass dieser auch  $G\alpha_q$ - oder  $G\alpha_s$ -Untereinheiten binden kann (Teicher und Fricker 2010). Die Lymphozytenmigration, eine der Hauptfunktion der Chemokine, wird ebenso durch die Aktivierung des CXCR4 reguliert. Die PI3-Kinase spielt hierbei als Schlüsselenzym eine wichtige Rolle und kann sowohl durch die  $G\alpha$ - als auch durch die  $G\beta\gamma$ -Untereinheit des Rezeptors stimuliert werden. Die Aktivierung der PI3-Kinase führt zur Phosphorylierung verschiedener Proteine, wie Pyk-2, CRK-assoziierten Substraten (p130Cas), fokalen Adhäsions-Kinasen (FAK), Paxilin, CRK und CRK-L. Zur Chemotaxis kann es entweder über die Aktivierung der Proteinkinase C und des Enzyms Map-Kinase oder durch das Protein ERK1/2 kommen. Neben der Chemotaxis kommt es durch die Aktivierung des CXCR4 auch zur vermehrten Transkription und Genexpression. Die bereits erwähnte PI3-Kinase führt hierbei zur Aktivierung der Serin-Threonin-Kinase AKT, welche eine Schlüsselrolle bezüglich des Überlebens der Tumorzellen und der Tumorpherifation

einnimmt. Neben der AKT beeinflussen weiterhin die Proteine p38 und ERK 1/2 das Tumorüberleben. Nachdem der Ligand an den CXCR4 gebunden hat, kommt es durch eine Internalisierung des Rezeptors zur Beendigung des Signals. Die intrazellulären Serine und Threonine am C-Terminus des Rezeptors werden durch G-Protein-gekoppelte-Rezeptor-Kinasen (GRK) phosphoryliert. Schließlich kommt es zur Rekrutierung von  $\beta$ -Arrestin und im Anschluss daran zur Clathrin-vermittelten Endozytose des Rezeptors (Teicher und Fricker 2010).



**Abbildung 2:** Darstellung des intrazellulären SDF-1/CXCR4-Signalwegs (nach Teicher und Fricker 2010)

### 2.4.3 Bedeutung des CXCR4 bei der Entstehung bösartiger Neubildungen

Chemokine induzieren zum einen das Tumorwachstum und spielen zum anderen eine entscheidende Rolle bei der Metastasierung der malignen Zellen in andere Körperstrukturen. Im umliegenden Gewebe bewirkt die Chemokin-Chemokinrezeptor-Interaktion eine Förderung des Tumorwachstums und eine gesteigerte Tumorangiogenese. In bestimmten Tumor-fernen Geweben, wie der Leber und der Lunge, kommt es durch die vermehrte Bildung von Chemokinen, wie beispielsweise SDF-1, zur vermehrten Metastasenbildung, da die Tumorzellen verstärkt CXCR4

exprimieren und sich entsprechend dem SDF-1-Gradienten dorthin bewegen (Wald et al. 2013). Die Forschergruppe um Liu fand indes heraus, dass es in hypoxämischen Geweben zu einer verstärkten Bildung von CXCR4 kommt (Liu et al. 2006). Die Induktion von CXCR4 ist jedoch noch nicht vollständig verstanden, allerdings sind mittlerweile mehrere Faktoren bekannt, die die Expression von CXCR4 steigern. Hierbei spielt insbesondere der sogenannte Hypoxie-induzierte Faktor (HIF) eine wichtige Rolle, da er sowohl die CXCR4-Expression ansteigen lässt, als auch die Migration von CXCR4-positiven Zellen zu Geweben mit vermehrter SDF-1-Produktion triggert (Liu et al. 2006). So kann es durch Mutationen zu einer Beeinflussung des HIF-Gehaltes in der Zelle kommen und somit auch zu einem veränderten CXCR4-Vorkommen (Balkwill 2004a). VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), ein Molekül, das die Angiogenese und Vaskulogenese durch Stimulation der vaskulären Endothelzellen positiv beeinflusst, führt ebenso zur Steigerung der CXCR4-Expression (Yla-Herttuala et al. 2007). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass es bei Brustkrebs durch die Bildung von NF $\kappa$ B zu einem direkten Anstieg von CXCR4 kommt (Helbig et al. 2003).

Wie bereits erwähnt, ist der CXCR4 auf einer großen Vielfalt von Geweben zu finden. Auf malignen Zellen kommt es jedoch zu einer besonders ausgeprägten Expression des CXCR4, was vermuten lässt, dass die CXCR4-SDF-1-Achse die Krebsbildung beeinflusst und zudem eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Metastasen spielt. So bilden CXCR4-positive Tumore gerade in solchen Organen mit erhöhter SDF-1-Expression, wie beispielsweise Lymphknoten, Lunge, Leber oder Knochen, vermehrt Metastasen (Jacobson und Weiss 2013, Teicher und Fricker 2010). Bisher sind schon einige CXCR4-exprimierende Tumorarten bekannt, wie beispielsweise Brustkrebs, Prostatakrebs, akute myeloische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphome, Kleinzellige Bronchialkarzinome, Melanome oder Gliome (Balkwill 2004a). Die Forschergruppe um Na fand zudem heraus, dass ein direkter Zusammenhang zwischen erhöhter CXCR4-Expression bei Brustkrebs, Kolon- und Rektumkarzinomen, Osteosarkom, hepatozellulärem Karzinom und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen besteht (Na et al. 2008). Weiterhin beeinflusst die CXCR4-SDF-1-Achse das Tumorstadium, indem sie die Gefäßneubildung im entstehenden Tumorgewebe fördert. So sorgt eine hohe Konzentration an SDF-1 im Tumorgewebe dafür, dass CXCR4-positive Zellen wie hämatopoetische Stammzellen und Stammzellen von Endothelzellen und glatten Muskelzellen chemotaktisch in den Tumor wandern und die Angiogenese begünstigen

(Teicher und Fricker 2010). Tumorzellen nutzen während des Vorgangs der Metastasierung denselben Chemokin-vermittelten Weg wie Leukozyten, wenn diese beispielsweise in entzündete Gewebe migrieren. Müller beschreibt am Beispiel des Brustkrebses, dass es durch die Aktivierung des CXCR4 bei den Krebszellen zur gesteigerten Actinpolymerisation und Ausbildung von Pseudopodien kommt. Diese Zellvorgänge dienen der Bewegung der Krebszellen und sind Voraussetzung für ein invasives Wachstum (Müller et al. 2001).

#### 2.4.4 Vorkommen des CXCR4 beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom

Kleinzellige Lungenkrebszellen exprimieren hohe Mengen an CXCR4, die nötig sind, um die Migration der Krebszellen und deren Adhäsion an die Stromazellen in ihrer Umgebung zu gewährleisten. Ebendiese Stromazellen produzieren das Chemokin SDF-1, welches zum Größenwachstum des Tumors beiträgt und eine wesentliche Rolle bei der Resistenz gegenüber Chemotherapeutika spielt (Burger et al. 2003, Kijima et al. 2002). Als Voraussetzung für die Adhäsion der Krebszellen an die extrazelluläre Matrix gilt die Aktivierung der CXCR4-positiven Tumorzellen durch das Chemokin SDF-1. Die Bindung von SDF-1 an CXCR4 führt dazu, dass Integrine in der Tumorzelle aktiviert werden und an Proteine der extrazellulären Matrix wie Kollagen und Fibronectin anhaften können. Integrine sind Transmembranproteine, die die Bindung und Reaktionen zwischen verschiedenen Zellen und der extrazellulären Matrix vermitteln. Die extrazelluläre Matrix, welche die kleinzelligen Tumorzellen umgibt, beinhaltet Fibronectin, Laminin, Kollagen IV und Tenascin. Durch diese Art der Verbindung können beide Zellarten miteinander interagieren (Hartmann et al. 2005). Ferner schützen die Zellen der extrazellulären Matrix die Tumorzellen vor Chemotherapie-induzierter Apoptose. Dies könnte wiederum einen möglichen therapeutischen Ansatz bei der Therapie der Kleinzelligen Bronchialkarzinome darstellen. Durch die Gabe von CXCR4-Antagonisten könnte die Verbindung zwischen Tumorzelle und Tumorstroma unterbunden werden, wodurch diese Tumore dann vermutlich sensibler für eine Chemotherapie wären (Burger und Stewart 2009).

#### 2.4.5 Vorkommen des CXCR4 beim Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom

Beim Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom zeigt sich im maligne veränderten Lungengewebe im Vergleich zum Lungennormalgewebe eine erhöhte CXCR4-

Expression. Su und Kollegen fanden einen Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression im Tumorgewebe und dem Metastasierungsgrad: So bilden Nichtkleinzellige Bronchialkarzinome mit erhöhter CXCR4-Expression deutlich häufiger Metastasen als solche, die nur wenig CXCR4 aufweisen (Su et al. 2005). Diesen Zusammenhang bestätigten Zhou und Kollegen am Beispiel der Knochenmetastasen (Zhou et al. 2012). Die vermehrte Metastasierung korrelierte wiederum mit einem schlechteren Outcome der Patienten (Su et al. 2005). Zudem hängt das metastatische Potential der Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome von weiteren Faktoren ab, wie etwa der Möglichkeit der Fortbewegung, dem Abbau der extrazellulären Matrix und der Adhäsionsfähigkeit an die Endothelzellen der Gefäße (Siegel et al. 1998). Eine erhöhte CXCR4-Expression ist mit einer verstärkten Bildung von kleinsten Gefäßen im Tumorgewebe assoziiert, welche wiederum das Tumorstadium fördern (Wald et al. 2013, Saintigny und Burger 2012). Laut Su und Kollegen gibt es keinen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß an CXCR4-Expression, dem Alter und Geschlecht der Patienten sowie dem Grading der Tumore (Su et al. 2005). Ebenso fanden die Forscher um Spano keinen Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und dem Tabakkonsum der Patienten sowie der Tumorstadium (Spano et al. 2004). Die Metastasierung der Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome erfolgt besonders in Organe mit hohem SDF-1-Gehalt wie beispielsweise in Nebenniere, Lunge, Leber und Knochenmark. In Niere oder Herz wird hingegen kaum SDF-1 gebildet und so finden sich dort nur sehr selten Metastasen von Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen (Phillips et al. 2003). Neben dem CXCR4 untersuchten die Forscher um Wagner auch die Rolle des SDF-1 in der Entstehung der Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome und fanden heraus, dass mehr als 80% der untersuchten Tumore SDF-1 bilden und dass zudem ein hoher SDF-1-Spiegel mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium einhergeht (Wald et al. 2013, Wagner et al. 2009).

#### 2.4.6 CXCR4-Antagonisten

In den 1990er Jahren wurden die ersten CXCR4-Antagonisten für die Therapie des HI-Virus entwickelt, wobei zu diesem Zeitpunkt nur wenig über den CXCR4 und seine Funktionen bekannt war. Seither wurden vier Gruppen an CXCR4-Antagonisten synthetisiert: nicht-peptidische CXCR4-Antagonisten, kleine peptidische CXCR4-Antagonisten, CXCR4-Antikörper und SDF-1-Antagonisten.

Der erste nicht-peptidische CXCR4-Antagonist, AMD3100, wurde in den 1990er Jahren für die HI-Virus-Behandlung entdeckt. Bei den klinischen Studien fiel den Forschern bei ihren Probanden ein schneller Anstieg der Leukozyten im Blut auf, welcher durch die Mobilisierung vieler hämatopoetischer Stammzellen durch das Medikament verursacht wurde. AMD3100, was heute vielmehr unter dem Namen Plerixafor bekannt ist, wird derzeit in Kombination mit dem Peptidhormon G-CSF zur Mobilisierung der hämatopoetischen Stammzellen genutzt. Diese werden zum einen bei der peripheren Stammzellspende und zum anderen bei der autologen Stammzelltransplantation beim Non-Hodgkin-Lymphom oder Multiplen Myelom angewendet. Der therapeutische Nutzen von Plerixafor bei verschiedenen Tumorerkrankungen wurde zunächst in vitro und im Tiermodell untersucht, wobei sich unter anderem auch für das Nichtkleinzellige Bronchialkarzinom positive Ergebnisse fanden. Plerixafor ist derzeit der einzige CXCR4-Antagonist, der in der Klinik eingesetzt wird.

Die kleinen peptidischen CXCR4-Antagonisten wurden in Anlehnung an die Proteine Tachyplesin und Polyphemusin entwickelt. Bei diesen Proteinen beobachteten Forscher eine Art Anti-HI-Virus-Aktivität, woraufhin sie diese Proteine chemisch modifizierten und das Molekül T140 entwickelten. T140 bindet an den CXCR4 und verhindert somit, dass dieser als Co-Rezeptor für den Eintritt des HI-Virus in die Zelle funktionieren kann. Weiterhin wurde die Bedeutung von T140 in Bezug auf verschiedene Tumorarten untersucht (Burger und Stewart 2009). Dabei zeigte sich die Effektivität von T140 in Studien für Kleinzellige Bronchialkarzinome (Burger et al. 2003), Brustkrebs und Pankreaskrebs (Burger und Stewart 2009).

CXCR4-Antikörper wurden mit dem Ziel erfunden, die Signalkaskade zwischen SDF-1 und CXCR4 zu unterbrechen. Der erste Antikörper 12G5 brachte in in-vitro-Experimenten deutliche Erfolge bei der Eindämmung der HIV-Infektion. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe des Antikörpers die Zahl der Metastasen und die Tumorprogression bei Brustkrebs, Lungenkrebs und Prostatakrebs auch im Tiermodell abnahm. Leider ist der therapeutische Nutzen solcher monoklonaler CXCR4-Antikörper bisher noch relativ gering, da der CXCR4 eine sehr heterogene Molekülkonformation zeigt und der 12G5 somit nur an eine Subpopulation des CXCR4 bindet.

Anstatt an den Rezeptor zu binden, besteht eine weitere therapeutische Möglichkeit darin, den Liganden, das SDF-1, unwirksam zu machen. Nach diesem Prinzip

funktioniert das Peptid-Analogon CTCE-9908, welches in den USA bereits für die Behandlung von Sarkomen zugelassen wurde (Burger und Stewart 2009).

#### 2.4.7 CXCR4-Nachweis mittels $^{68}\text{Ga}$ -CPCR4-2-PET

Mit der Entwicklung des hochsensitiven und spezifischen Liganden  $^{68}\text{Ga}$ -CPCR4-2 (cyclo(D-Tyr1-D-[NMe]Orn2-[AMBS-DOTA]-Arg3-2-Nal4-Gly5)), der im Körper an CXCR4 bindet, erhoffen sich die Forscher um Gourni und Wester eine verbesserte Diagnostik der CXCR4-positiven Tumore (Gourni et al. 2011). Hierbei wird ein spezifischer Ligand mit einem Radionuklid, in diesem Fall mit Gallium, verknüpft, so dass es mittels einer PET detektiert werden kann. Durch die spezifische Bindung des Liganden an seinen Rezeptor können CXCR4-positive Tumore oder Metastasen sichtbar gemacht werden. Das instabile Gallium, welches eine Halbwertszeit von 68 Minuten hat, sendet bei seinem Zerfall Positronen aus, welche von einem Scanner detektiert werden. Die Kombination der PET mit einer CT gibt schließlich genaue Informationen über die Lokalisation und die Größe des Tumors, was für das weitere therapeutische Vorgehen von entscheidender Bedeutung sein kann. Möglicherweise kann der CPCR-4-2-Marker in Zukunft auch zur Früherkennung in der Tumordiagnostik oder als Verlaufsparemeter während einer Tumorthapie eingesetzt werden und somit als Baustein für eine individualisierte Therapie dienen (Demmer et al. 2011).

## 2.5 Somatostatin

Somatostatin ist ein zyklisches Peptidhormon, das erstmalig 1972 aus dem Hypothalamus isoliert wurde. Es inhibiert dort die Bildung von Somatotropin und wird deshalb auch *somatotropin-inhibitory hormone* (SIH) genannt. Bisher konnten verschiedene Somatostatinsubtypen isoliert werden: man unterscheidet hierbei SST-14, bestehend aus 14 Aminosäuren, und SST-28, welches 28 Aminosäuren lang ist (Prasad et al. 2007). Die Entstehung beider Subtypen aus dem 116 Aminosäuren umfassenden Präprosomatostatin erfolgt durch Konvertasen (Goodman et al. 1983). Außer in den D-Zellen des Pankreas findet man Somatostatin im zentralen und peripheren Nervensystem, in den Nebennieren, in den Nieren, in der Prostata und in Zellen des Immunsystems (Piper 2007, Mundschenk et al. 2003). Weiterhin enthält eine Vielzahl von neoplastischen Geweben Somatostatinrezeptoren, wie beispielsweise neuroendokrine Tumore, Lymphome und Mammakarzinome (Reubi et al. 1992).

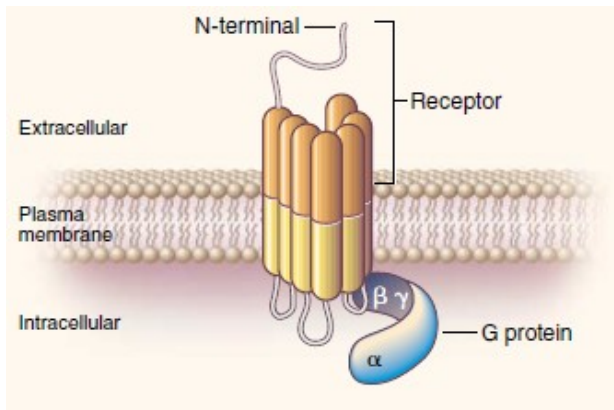
Somatostatin vermittelt seine Funktion einerseits als Neurotransmitter und andererseits über endokrine, parakrine und autokrine Regulationskreise. Im Hypothalamus wirkt das Neurohormon vor allem als Regulator des Wachstumshormons (*growth hormone*, GH) indem es seine Ausschüttung verhindert. Weiterhin inhibiert Somatostatin die Sekretion von Dopamin, Thyreotropin-releasing Hormon (TRH), Corticotropin-releasing Hormon (CRH) und Thyreoidea-stimulierendem Hormon (TSH) (Patel 1999). Im Gastrointestinaltrakt hemmt Somatostatin die Magensäureproduktion, die Ausschüttung pankreatischer Hormone und die Bikarbonatsekretion (Prasad et al. 2007). Außerdem verhindert Somatostatin die Freisetzung zahlreicher pankreatischer und gastrointestinaler Hormone wie Insulin, Glukagon, Gastrin, Sekretin, Cholezystokinin, Pepsin und VIP (Vasoaktives intestinales Peptid). Weiterhin inhibiert Somatostatin die Sekretion von Wachstumshormonen wie IGF-1 (Insulin-like growth factor-1) und EGF (Epidermal Growth Factor) und wirkt negativ auf die Ausschüttung von Zytokinen wie IL-6 und IFN- $\gamma$ . Die Somatostatinsekretion unterliegt in den einzelnen Geweben verschiedenen Regulationsmechanismen. Beispielsweise führt ein hoher Blutglucosespiegel zu einer verminderten Ausschüttung von Somatostatin im Hypothalamus, wohingegen die Sekretion von Somatostatin im Darm durch hohe Konzentrationen an Glukose, Aminosäuren und Lipiden im Darmlumen stimuliert wird. Eine Erhöhung des Insulinspiegels führt zur vermehrten Freisetzung von Somatostatin im Hypothalamus und gleichzeitig zu einer verminderten Somatostatinbildung im Darm und Pankreas. Außerdem stimulieren die inflammatorischen Zytokine IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-6 die Sekretion von Somatostatin (Patel 1999).

## 2.6 Somatostatinrezeptoren

Das Peptidhormon Somatostatin vermittelt seine biologischen Wirkungen über sechs verschiedene Rezeptoren (SSTR1, SSTR2A, SSTR2B, SSTR3, SSTR4, SSTR5). Die Rezeptoren SSTR2A und SSTR2B stellen verschiedene Spleißvarianten des SSTR2-Gens dar, wobei im menschlichen Körper bisher lediglich der SSTR2A nachgewiesen werden konnte (Patel und Srikant 1997). Alle Somatostatinrezeptoren zeigen den typischen Aufbau eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors mit sieben Transmembrandomänen (siehe Abbildung 3). Das N-terminale Ende der Rezeptoren, an das der spezifische Ligand bindet, befindet sich extrazellulär und der C-Terminus,



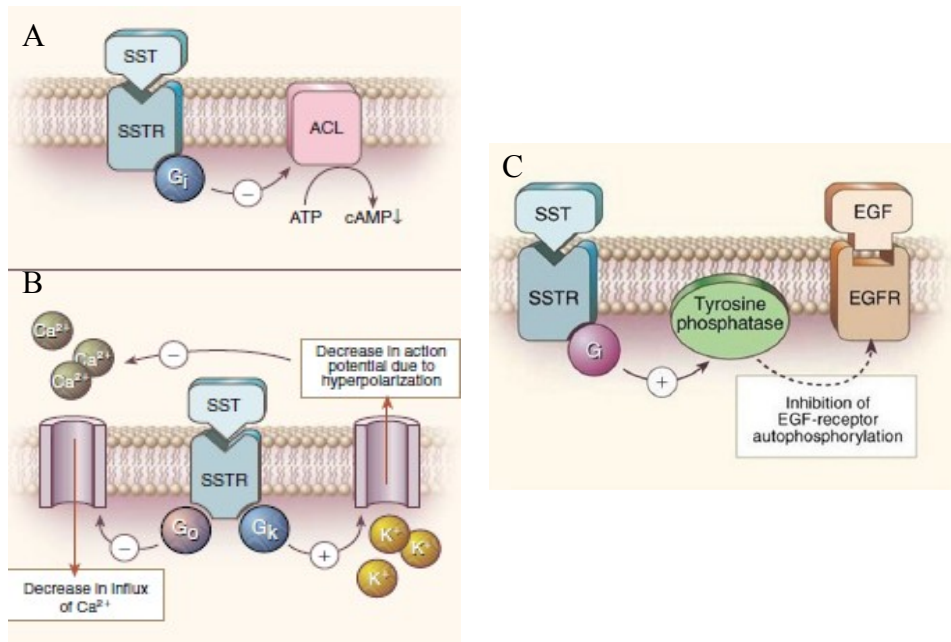
welcher den Beginn der intrazellulären Signalkaskade darstellt, im Inneren der Zelle (Fischer et al. 2008, Patel 1999).



**Abbildung 3:** Aufbau eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors (nach Lamberts et al. (1996))

### 2.6.1 Signaltransduktion der Somatostatinrezeptoren

Die Bindung von Somatostatin an das N-terminale Ende des Somatostatinrezeptors führt im Zellinneren zur Aktivierung eines  $G_i$ -Proteins. Dieses  $G_i$ -Protein bindet an das Enzym Adenylatzyklase und inhibiert dieses, wodurch es in der Zelle zur Abnahme von cAMP kommt (siehe Abbildung 4A). Weitere G-Proteine ( $G_0$  und  $G_K$ ) beeinflussen im Zellinneren die Aktivität von  $K^+$ - und  $Ca^{2+}$ -Kanälen. So hemmt das  $G_0$ -Protein den  $Ca^{2+}$ -Einstrom in die Zelle und senkt damit die  $Ca^{2+}$ -Konzentration. Das  $G_K$ -Protein vermindert den  $K^+$ -Ausstrom aus der Zelle, wodurch es zum intrazellulären  $K^+$ -Anstieg kommt (siehe Abbildung 4B). Ein weiteres G-Protein führt durch die Aktivierung der Thyrosinkinase zur Inhibition der Autophosphorylierung des epidermal growth factor (EGF), was letztendlich antimitotische Effekte auf die Zelle ausübt (siehe Abbildung 4C) (Lamberts et al. 1996).



**Abbildung 4:** Signaltransduktionsweg der Somatostatinrezeptoren (nach Lamberts et al. (1996))

## 2.6.2 Vorkommen der Somatostatinrezeptoren

Somatostatinrezeptoren kommen in vielen verschiedenen Geweben vor, wie beispielsweise Hypophyse, Zerebellum, Speicheldrüsen, Schilddrüse, Nebenschilddrüse, Blutgefäßen, Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Milz, Duodenum, Ileum, Kolon, Pankreas, Hoden und Eierstöcken (Prasad et al. 2007). Einige Gewebe exprimieren parallel verschiedene Somatostatinrezeptoren (Mundschenk et al. 2003, Reisine und Bell 1995). Den Rezeptorsubtyp SSTR2 fanden Reubi und Kollegen vor allem in Gefäßen, Nerven, Nebennierenmark, Pankreasinseln und Milz (Reubi et al. 2001).

## 2.6.3 Bedeutung der Somatostatinrezeptoren bei bösartigen Neubildungen

Neuroendokrine Tumore, die aus SSTR-exprimierenden Normalgeweben abstammen, weisen häufig große Mengen der Rezeptoren auf (Hofland und Lamberts 2003). Auch die Forscher um Prasad beschäftigten sich mit der Verteilung der Somatostatinrezeptoren in Tumorgeweben, wobei sich zeigte, dass Neuroblastome, Meningeome, Medulloblastome, Kleinzellige Bronchialkarzinome, Lymphome, Nierenzellkarzinome, Mammakarzinome und hepatozelluläre Karzinome den SSTR2 häufig überexprimieren (Prasad et al. 2007). Prostatakarzinome und Sarkome weisen vermehrt den SSTR1 auf (Reubi et al. 2001), wohingegen Phäochromozytome sowohl

den SSTR1 als auch den SSTR2 exprimieren. Eine detaillierte Übersicht über die Verteilung der einzelnen Rezeptorsubtypen in verschiedenen Tumoren, die auf den Untersuchungen von Hofland und Lamberts basiert, ist in Tabelle 3 dargestellt. Hierbei ist auch zu sehen, dass die meisten Somatostatinrezeptor-positiven Tumore gleichzeitig verschiedene Rezeptorsubtypen exprimieren (Hofland und Lamberts 2003).

**Tabelle 3:** Vorkommen der Somatostatinrezeptoren in humanen Tumorgeweben (nach Hofland und Lamberts (2003)). Die Prozentangaben beziehen sich auf die Prävalenz der jeweiligen Rezeptor-mRNA-Expression in den einzelnen Tumorarten, k.A.: keine Angaben

	<b>SSTR1</b>	<b>SSTR2</b>	<b>SSTR3</b>	<b>SSTR4</b>	<b>SSTR5</b>
<b>Hypophysenadenome</b>					
ACTH-produzierend	56%	67%	25%	0%	86%
GH-produzierend	44%	96%	44%	5%	86%
hormonell inaktiv	38%	75%	43%	13%	48%
<b>Neuroendokrine Tumore</b>					
Karzinoid	76%	80%	43%	68%	77%
Gastrinom	79%	93%	36%	61%	93%
Insulinom	76%	81%	38%	58%	57%
Hormonell inaktive Inselzelladenome	58%	88%	42%	48%	50%
<b>Nierenzellkarzinom</b>	85%	100%	0%	50%	k.A.
<b>Gliom</b>	100%	100%	67%	71%	57%
<b>Kolorektales Karzinom</b>	27%	87%	22%	10%	46%
<b>Mammakarzinom</b>	33%	99%	38%	23%	18%
<b>Medulläres Schilddrüsenkarzinom</b>	29%	79%	36%	0%	64%
<b>Meningeom</b>	46%	100%	33%	50%	71%
<b>Neuroblastom</b>	0%	100%	17%	k.A.	k.A.
<b>Phäochromozytom</b>	100%	100%	73%	73%	73%

### 3 Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit war die Untersuchung von Bronchialkarzinompräparaten auf das Vorhandensein der Rezeptoren CXCR4 sowie SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4 und SSTR5. Die untersuchten Tumore stammten von drei verschiedenen Entitäten des Bronchialkarzinoms (Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom, Kleinzelliges Bronchialkarzinom), sodass ein möglicher Zusammenhang zwischen Tumorentität und Rezeptorhäufigkeit untersucht werden konnte. Dazu wurden von den Tumoren immunhistochemische Färbungen angefertigt und mit Hilfe von drei Scores ausgewertet. Weiterhin wurde untersucht, ob bestimmte Rezeptorkombinationen gehäuft miteinander auftraten. Demnach könnte es möglich sein, bei bekanntem Rezeptorbesatz mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf das gleichzeitige Vorhandensein eines weiteren Rezeptors zu schließen. Die Kenntnis einer bestimmten Rezeptorexpression, abhängig von der Tumorentität, könnte als Grundlage für eine spezifische Therapie dienen. So könnten Tumore mit starker SSTR2-Expression möglicherweise mit Octreotid behandelt werden. Ebenso wäre eine Therapie mit Pasireotid für SSTR1-, SSTR3- oder SSTR5-positive Tumore und eine Behandlung mit Plerixafor für CXCR4-positive Tumore denkbar.

Zudem wurde die Frage bearbeitet, ob ein bestimmter Rezeptorbesatz mit einer günstigeren oder schlechteren Prognose einhergeht.

Diese Arbeit schafft daher eine Grundlage für die weitergehende Untersuchung dieser Rezeptoren an verschiedenen Tumoren des Menschen. Speziell beim Bronchialkarzinom könnte sich somit, vor dem Hintergrund der immer noch sehr limitierten Behandlungsmöglichkeiten, ein zukünftiger Therapieansatz ergeben.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Materialien und Substanzen

#### 4.1.1 Tumormaterial / Präparate

Für die immunhistochemische Färbung wurden 83 Tumorpräparate aus dem Labor für Pathologie und Zytologie in Bad Berka zur Verfügung gestellt. Bei den Präparaten handelte es sich um in Paraffin eingebettetes Tumorgewebe von insgesamt 57 Patienten. Die Paraffinblöcke umfassten folgende Bronchialkarzinomarten: Adenokarzinom (22 Patienten), Plattenepithelkarzinom (21 Patienten) und Kleinzelliges Bronchialkarzinom (14 Patienten). Von den untersuchten Patienten wiesen 20 Patienten mehr als nur einen Tumorblock auf. Neben dem Tumorgewebe befanden sich in den Gewebeschnitten auch Anschnitte unveränderten Lungengewebes.

Mit Hilfe eines Mikrotoms erfolgte die Anfertigung 4 µm dicker Schnitte, welche anschließend auf Poly-L-Lysin-beschichtete Objektträger aufgebracht wurden.

#### 4.1.2 Puffer und Lösungen

*PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung, pH 7,4)*

8,18 g NaCl

1,77 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

0,2 g KCl

0,24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

auf 1000 ml Aqua bidestillata

*PBS/1% RSA (Rinderserumalbumin)*

495 ml PBS

5 g Rinderserumalbumin

*Citratpuffer-Stammlösung A (0,1 M)*

21,01 g Zitronensäure

auf 1000 ml Aqua bidestillata

*Citratpuffer-Stammlösung B (0,1 M)*

29,41 g Natriumcitrat

auf 1000 ml Aqua bidestillata

*Citratpuffer (0,01 M, pH 6,0)*

900 ml Aqua bidestillata

18 ml Stammlösung A

82 ml Stammlösung B

*Ammoniakwasser*

250 ml Aqua bidestillata

1,4 ml Ammoniak 25%

*0,15 % Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung*

600 ml Methanol

3 ml Wasserstoffperoxid 30%

*Färbelösung, 10 ml (3-Amino-9-Ethylcarbazol)*

8 ml Aqua bidestillata

2 ml Acetat-Puffer

4 Tropfen Aminoethylcarbazol

*Blockierungslösung*

10 ml PBS/1% RSA

150 µl normales Ziegenserum

*Sekundär-Antikörper (Vector 1)*

10 ml PBS/1% RSA

150 µl Ziegenserum

50 µl biotinylierter Sekundärantikörper (Anti-Kaninchen IgG)

*Avidin-Biotin-Enzym-Komplex (Vector 2)*

5 ml PBS/1% RSA

100 µl Reagenz A (Avidin)

100 µl Reagenz B (biotinylierte Peroxidase)

*Mowiol*

6 g Glycerin

2,4 g Mowiol 4-88

6 ml Aqua bidestillata

12 ml Tris-HCl (pH 8,5)

25 mg/ml Lösung DABCO

#### 4.1.3 Substanzen für die Immunhistochemie

Aminoethylcarbazol (AEC)	BioGenex, San Ramon, CA (USA)
Ammoniak	MERCK, Darmstadt, Deutschland
DABCO	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Depex	SERVA Elektrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Eosin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Ethanol	Nordbrand, Nordhausen, Deutschland
Glycerin	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumchlorid	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Mayer's Hämatoxylin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Methanol	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Mowiol 4-88	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Natriumchlorid	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Natriumcitrat	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Rinderserumalbumin	PAA Laboratories, Pasching, Österreich
Tris-Hydrochlorid	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Wasserstoffperoxid	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Xylol	MERCK, Darmstadt, Deutschland
Zitronensäure	MERCK, Darmstadt, Deutschland

#### 4.1.4 Geräte und sonstige Materialien

Deckgläser	Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland
------------	---

Laborwaage	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Magnetrührer	Schott Instruments GmbH, Mainz, Deutschland
Mikroskop Axio Imager A1	Carl Zeiss, Jena, Deutschland
Mikrowelle CB 1271	Bomann, Kempen, Deutschland
Poly-L-Lysin-Objektträger	Thermo Scientific, Menzel-Gäser, Braunschweig, Deutschland
Rotationsmikrotom	Microm, Walldorf, Deutschland
Sequenza-Färbesystem	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts USA

#### 4.1.5 Antikörper

Bei der Wahl des Primärantikörpers gilt es zwischen monoklonalen und polyklonalen Antikörpern zu unterscheiden. Zur Herstellung polyklonaler Antikörper werden Tiere (bspw. Kaninchen, Ziegen, Schafe oder Schweine) gegen ein injiziertes Antigen immunisiert. Dann wird den Tieren Serum entnommen und die gebildeten Antikörper werden herausgereinigt. Diese Antikörper zeigen zwar eine hohe Affinität, führen aber im Gewebe oft zu unspezifischen Kreuzreaktionen, wodurch die Detektion des gesuchten Antigens ungenau wird. Zur Gewinnung von monoklonalen Antikörpern erhält ein Tier (beispielsweise Kaninchen oder Maus) zunächst ein spezifisches Antigen injiziert, woraufhin es im Körper des Tieres zur Vermehrung der B-Zellen und zur Bildung spezifischer Antikörper kommt. Anschließend wird die Milz des Tieres, welche viele der Antikörper-produzierenden B-Zellen enthält, entnommen. Nun werden die B-Zellen mit in Kultur gezüchteten Tumorzellen eines Myeloms fusioniert. Die daraus entstandenen Zellhybride bilden kontinuierlich den gewünschten Antikörper, der aus dem Überstand des Kulturmediums gewonnen werden kann. Monoklonale Antikörper zeigen eine höhere Spezifität, da sie ausschließlich mit dem gesuchten Antigen reagieren. Sie eignen sich daher besonders gut für immunhistochemische Färbungen (Boecker et al. 2004, Breitling und Dübel 1997).

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Primärantikörper sind in Tabelle 4 zusammengestellt.



**Tabelle 4:** Verwendete Primärantikörper

humaner Rezeptor (Aminosäurenummer)	Antikörper	Klonnummer	Antigene Sequenz des Peptids
SSTR1 (377-391)	UMB - 7	11/ 12	ENLESGGVFRNGTCTSRITTL
SSTR2 (355-369)	UMB - 1	97/ 1	ETQRTLNGDLQTSI
SSTR3 (398-418)	UMB - 5	31/ 10	QLLPQEASTGEKSSTMRISYL
SSTR4 (366-388)	4802		CQQEALQPEPGRKRIPLTRTTTF
SSTR5 (344-364)	UMB - 4	30/ 5	QEATPPAHRAAANGLMQTSKL
CXCR4 (338-359)	UMB - 2	232/ 8	KGKRGHSSVSTESESSSFHSS

Bei den Antikörpern UMB-1, UMB-2, UMB-4, UMB-5 und UMB-7 handelt es sich um monoklonale Kaninchen-Antikörper, die an das carboxyterminale Ende des jeweiligen Rezeptors binden. Der Anti-SSTR4-Antikörper 4802 ist im Gegensatz dazu ein polyklonaler Antikörper. Die Zellklone für die Herstellung der monoklonalen Antikörper wurden im Auftrag des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena von der Firma Epitomics (Burlingame, CA, USA) erstellt und zur Verfügung gestellt. Der polyklonale Anti-SSTR4-Antikörper stammte von der Firma Gramsch Laboratories (Schwabhausen, Deutschland). Die Verdünnung der Primärantikörper erfolgte entsprechend der Tabelle 5.

**Tabelle 5:** Antikörper-Verdünnung

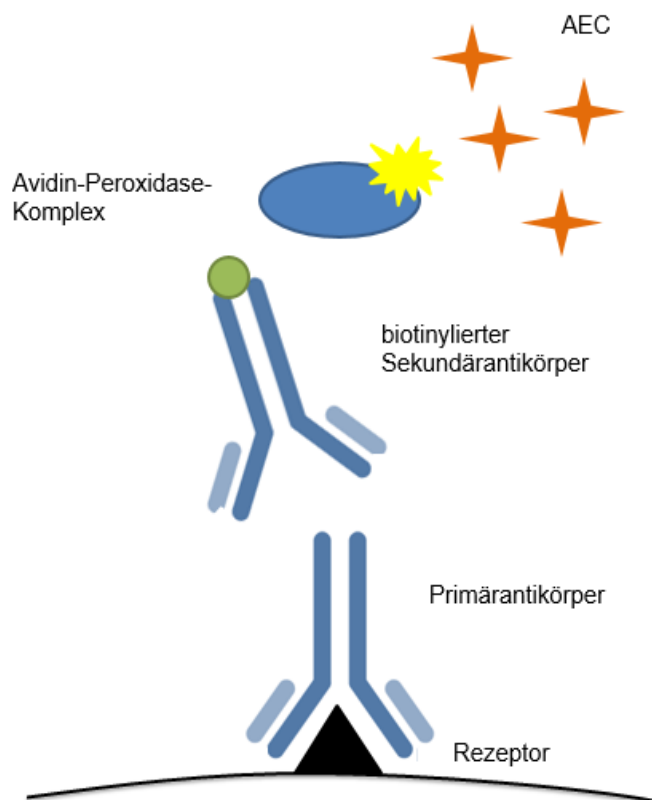
Rezeptor	Antikörper	Verdünnung
SSTR1	UMB-7	1:10
SSTR2	UMB-1	1:10
SSTR3	UMB-5	1:20
SSTR4	4802	0,5 µg/ml
SSTR5	UMB-4	1:10
CXCR4	UMB-2	1+1

Der verwendete Sekundärantikörper stammte aus dem Vectastain-ABC-Kit der Firma Vector Laboratories (Burlingame, CA, USA). Es handelt sich hierbei um einen Ziegen-Anti-Kaninchen-Antikörper, der kovalent an Biotin gekoppelt ist und artspezifisch an den Primärantikörper bindet.

## 4.2 Methoden

### 4.2.1 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie dient dazu, gesuchte Antigene innerhalb eines Gewebes sichtbar zu machen. Um das Antigen zu detektieren, wird ein Primärantikörper benutzt, der spezifisch das Epitop des Antigens erkennt und mit seinem Fc-Teil die Bindungsstelle für den biotinylierten Sekundärantikörper bildet (siehe Abbildung 5). Das Peroxidase-konjugierte Avidin koppelt nun, entsprechend der Avidin-Biotin-Interaktion, an den Biotinrest des Sekundärantikörpers. Nach Zugabe des Chromogens Aminethylcarbazol (AEC) reagiert dieses mit der Meerrettichperoxidase und es kommt zur Rotbraunfärbung des Zielgewebes. Der Farbumschlag lokalisiert somit das gesuchte Antigen (Boecker et al. 2004).



**Abbildung 5:** Funktionsweise der indirekten-Peroxidase-Methode bei der Immunhistochemie

#### 4.2.1.1 Entparaffinieren der Schnitte und Demaskierung der Rezeptoren

Um das Paraffin auf den Objektträgern zu lösen, wurden die Schnitte zunächst in Glasküvetten einsortiert und dreimalig für jeweils 20 Minuten in Xylol getaucht.

Anschließend erfolgte die dreimalige Reinigung der Schnitte für je 20 Minuten in Alkohol, um das Xylol zu entfernen. Um unspezifische Färbungen durch die endogene Peroxidase zu verhindern, wurde diese blockiert, indem die Schnitte für 45 Minuten in Methanol und 0,15% Wasserstoffperoxid inkubiert wurden. Daraufhin folgte eine absteigende Alkoholreihe (2 x 95% Ethanol, 80% Ethanol, 70% Ethanol, 2 x Aqua bidestillata - jeweils 2 min), um die Tumorproben wieder zu rehydrieren. Anschließend wurden die Objektträger in Mikrowellen-geeignete Plastikküvetten umsortiert. Durch das Kochen der Proben in Citratpuffer erfolgte die Demaskierung der Antigene zur Verstärkung der Signalintensität. Die Schnitte wurden hierfür nach folgendem Schema abwechselnd gekocht und gekühlt:

- 8 Minuten kochen,
- 4 Minuten abkühlen,
- 4 Minuten kochen,
- 4 Minuten abkühlen,
- 4 Minuten kochen,
- 20 Minuten abkühlen.

Als nächstes folgte die Inkubation der Objektträger für 5 Minuten in aqua bidestillata und anschließend für weitere 5 Minuten in PBS/1% RSA. Durch das Waschen mit der Pufferlösung wurden unterschiedliche Ladungen innerhalb des Gewebes abgesättigt und somit unspezifische Bindungen verhindert.

#### 4.2.1.2 Antikörperbindung und Färbung

Die Objektträger wurden anschließend aus den Plastikküvetten entnommen und in ein Sequenza-Färbesystem (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) eingespannt, wodurch zwischen Objektträger und Färbesystem ein kapillärer Spalt entstand, über den die Zugabe der Lösungen zu den Präparaten erfolgte. Auf jeden einzelnen Objektträger wurden zunächst 1500 µl PBS/1% RSA gegeben, um die Ladungen im Gewebe abzusättigen und die korrekte Positionierung im Färbesystem zu überprüfen. Um eine Hintergrundfärbung zu vermeiden, wurden 150 µl normales Ziegen Serum zu jeder Gewebeprobe gegeben, da der Sekundärantikörper von der Ziege stammte. Als nächstes folgte die Zugabe von 300 µl spezifischem Primärantikörper, der über Nacht bei 4°C auf den Präparaten verblieb.

Am nächsten Tag wurden die Objektträger zweimal mit je 1500 µl PBS/1% RSA gespült, um unspezifisch oder nicht gebundene Antikörper zu entfernen. Als nächstes erfolgte die Zugabe von 150 µl biotinyliertem Sekundärantikörper (Vector 1), mit dem die Gewebe dann für 30 Minuten inkubiert wurden. Danach wurden die Objektträger erneut mit 1500 µl PBS/1% RSA gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Es folgte die Zugabe von 150 µl des an die Meerrettichperoxidase gekoppelten Avidins (Vector 2), um die Farbreaktion zu ermöglichen. Die Objektträger wurden weitere 30 Minuten mit dem Vector 2 inkubiert, bevor sie erneut mit 1500 µl PBS/1% RSA gewaschen wurden. Danach wurden zweimal je 150 µl der AEC-Färbelösung für jeweils 15 Minuten auf die Präparate gegeben. Nach 30 Minuten folgte die Zugabe von 1500 µl aqua bidestillata um die Reaktion des Chromogens zu stoppen.

#### 4.2.1.3 Hämatoxylin-Gegenfärbung und Eindecken

Zur Durchführung der weiteren Schritte wurden die Objektträger zunächst aus dem Färbesystem entfernt, in eine Färbeküvette einsortiert und für 2 x 1 Minute mit aqua bidestillata gewaschen. Die Gegenfärbung der Zellkerne mit Hilfe von Mayer's Hämatoxylin (50 Sekunden) diente der besseren Orientierung bei der mikroskopischen Beurteilung der Präparate. Anschließend wurden die Präparate erneut für 2,5 Minuten in Aqua bidestillata gewaschen und danach fünf Mal in Ammoniaklösung getaucht, um das Hämatoxylin zu bläuen. Nach einem letzten Waschen in Aqua bidestillata für weitere 2,5 Minuten folgte das Eindecken der Präparate mit Mowiol und Deckgläsern.

#### 4.2.2 Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung

Um sich in den Präparaten besser orientieren und diese leichter auszuwerten zu können, wurde neben der immunhistochemischen Färbung auch eine Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung angefertigt. Zunächst wurden die Präparate für 3 x 20 Minuten in Xylol getaucht, um anschließend für 3 x 20 Minuten in 100% Ethanol inkubiert zu werden. Das Xylol diente der Entparaffinierung der Präparate und das Ethanol zur Entfernung des Xylols. Anschließend folgte das Waschen in Aqua bidestillata für 2 x 2 Minuten und die Färbung in Mayer's Hämatoxylin für 30 Minuten. Danach wurden die Präparate für 1 Minute in Aqua bidestillata, 20 Minuten in Leitungswasser und 2 Minuten in Aqua bidestillata getaucht. Das Leitungswasser diente der Bläuung der zunächst rötlich-braun gefärbten Zellkerne, wodurch sich der typische blau-violette

Farbton bildete. Nun folgte die Färbung des Zytoplasmas mit Eosin für 8 Minuten. Anschließend wurden die Präparate 3 x 1 Minute in Aqua bidestillata gewaschen und 20 mal in 100% Ethanol getaucht. Dann wurden die Präparate 5 Minuten in Ethanol und anschließend in Xylol (2 x 5 Minuten, anschließend 2 Minuten) inkubiert. Abschließend erfolgte das Eindecken der Präparate mit Hilfe von Depex und Deckgläschen.

#### 4.2.3 Scores

Zur Quantifizierung der angefärbten Tumorareale und zur Bestimmung der Intensität der Färbung wurden drei verschiedene Scores eingesetzt. Die Präparate wurden von einer Person gesichtet und nacheinander, entsprechend den verschiedenen Scores, bewertet. Da sich für den EGFR-Score übereinstimmende Ergebnisse zu den beiden anderen Bewertungssystemen ergaben, wurde in der vorliegenden Arbeit aus Gründen der Übersichtlichkeit auf die gesonderte Darstellung dieses Scores verzichtet.

##### 4.2.3.1 Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner

Die Bewertung der Tumorpräparate entsprechend dem Immunreaktiven Score (IRS) nach Remmele und Stegner (1987) ist in Tabelle 6 dargestellt. Zunächst wurde eine Punktzahl für die Menge der angefärbten Tumorzellen vergeben (0 bis 4 Punkte). Anschließend wurde die Intensität der Färbung betrachtet und dafür ebenfalls eine Punktzahl vergeben (0 bis 3 Punkte). Der IRS ergab sich dann aus dem Produkt beider vergebenen Punktzahlen.

**Tabelle 6:** Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner (1987)

Prozentsatz positiver Zellen	x Färbeintensität	= IRS
0 Punkte ( <i>keine positiven Zellen</i> )	0 Punkte ( <i>keine Färbung</i> )	0 - 12 Punkte
1 Punkt ( <i>&lt;10% positive Zellen</i> )	1 Punkt ( <i>schwache Färbung</i> )	
2 Punkte ( <i>10% - 50% positive Zellen</i> )	2 Punkte ( <i>mäßige Färbung</i> )	
3 Punkte ( <i>51% - 80% positive Zellen</i> )	3 Punkte ( <i>starke Färbung</i> )	
4 Punkte ( <i>&gt;80% positive Zellen</i> )		

Bei einer ungleichmäßigen Anfärbung des Tumorgewebes erfolgte die Berechnung des IRS-Scores wie im folgenden Beispiel. Angenommen, 30% der Tumorzellen zeigten eine schwache, 50% der Tumorzellen eine mäßige und die restlichen 20% eine starke Färbung. Demnach sind alle Zellen des Tumors angefärbt, was einer Punktzahl von 4

Punkten entspricht. Der zweite Faktor ergibt sich nun, indem man die einzelnen Färbeintensitäten entsprechend ihres Vorkommens wichtet.

#### *Rechenbeispiel*

4 Punkte (entspricht > 80% positiven Tumorzellen)  $\times$  (1  $\times$  3/10 (Anteil schwach gefärbter Zellen) + 2  $\times$  5/10 (Anteil mäßig gefärbter Zellen) + 3  $\times$  2/10 (Anteil stark gefärbter Zellen)) = 4  $\times$  1,9 = 7,6.

Im angegebenen Rechenbeispiel ergibt sich somit ein IRS von 7,6 Punkten. Zur leichteren Handhabung wurde die vergebene Punktzahl anschließend gerundet.

Durch die Klassifizierung des IRS-Scores in die Gruppen 0 bis 3 (siehe Tabelle 7), war es abschließend möglich, den Immunreaktiven Score mit den beiden folgenden Scores zu vergleichen, da diese ebenfalls in Gruppen von 0 bis 3 eingeteilt sind. Bei der weiteren statistischen Aufarbeitung der Daten wurde schließlich die IRS-Klassifikation genutzt. Proben mit einem IRS-Score von 0 oder 1 gelten nach der IRS-Klassifikation als negativ. Bei einem IRS-Score von 2 oder 3, wurde das Präparat als schwach positiv bewertet. Eine mäßige Positivität fand sich bei einem IRS-Score von 4 bis 8. Alle Werte größer 8 entsprachen einer starken Färbung.

**Tabelle 7:** Klassifikation des Immunreaktiven Scores

<b>IRS-Score</b>	<b>IRS-Klassifikation</b>
0-1	0 = <i>negativ</i>
2-3	1 = <i>positiv, schwache Expression</i>
4-8	2 = <i>positiv, mäßige Expression</i>
9-12	3 = <i>positiv, starke Expression</i>

#### 4.2.3.2 Bewertung nach dem Her2/neu-Score

Der Her2/neu-Score geht auf den von der Firma DakoCytomation angebotenen HercepTest<sup>TM</sup> zurück, der den membranständigen Her2-Rezeptor bei Mammakarzinomen nachweist. Bei der Bewertung des Tumorgewebes nach dem Her2/neu-Score wurde ebenfalls die Menge der gefärbten Tumorzellen und deren Färbeintensität beurteilt (Wolff et al. 2014). Zunächst wurde entschieden, ob mindestens 10% der Tumorzellen ein Färbesignal zeigten. Waren weniger als 10% des Tumors positiv, galt diese Probe als negativ. Konnten mehr als 10% gefärbt werden, war die Stärke der Tumorfärbung entscheidend (siehe Tabelle 8). War ein Tumor beispielsweise

zu 80% schwach und zu 20% stark gefärbt, wurde dieser entsprechend mit einer Punktzahl von 3 bewertet.

**Tabelle 8:** Bewertung nach dem Her2/neu Score

Her2/neu-Score	Reaktionsmuster	Bewertung
0	keine Färbereaktion oder < 10 % positive Tumorzellen	negativ
1	> 10 % positive Tumorzellen mit schwacher Färbung	schwach positiv
2	> 10 % positive Tumorzellen mit mäßiger Färbung	mäßig positiv
3	> 10 % positive Tumorzellen mit starker Färbereaktion	stark positiv

#### 4.2.3.3 EGFR-Score

Zur Beurteilung eines Tumors entsprechend dem EGFR-Score musste zunächst wieder die Menge der gefärbten Tumorzellen und deren Färbeintensität untersucht werden. Entsprechend der Häufigkeit der Immunreaktion ergab sich ein Wert von 0 bis 100%. Dieser wurde dann je nach Intensität der Färbung mit einem Faktor von 1 bis 3 multipliziert (1 - schwache Färbung, 2 - mäßige Färbung, 3 - starke Färbung). Der EGFR-Score ergibt demnach Werte zwischen 0 und 300 Punkten. Ursprünglich wurde dieser Score zur Quantifizierung des EGF-Rezeptors (epidermal growth factor receptor) entwickelt und hierbei bereits bei der Bewertung von Brustgewebe (Gori et al. 2009) oder Lungengewebe eingesetzt (Hirsch et al. 2008).

#### *Rechenbeispiel*

Ein Tumor färbte sich zu 10% schwach, zu 20% mäßig und zu 50% stark an. Der EGFR-Score berechnete sich demnach wie folgt:

$$10 \times 1 \text{ (schwache Färbung)} + 20 \times 2 \text{ (mäßige Färbung)} + 50 \times 3 \text{ (starke Färbung)} = 200$$

Der Tumor erhielt also einen EGFR-Score von 200 Punkten.

Um den EGFR-Score anschließend mit den beiden anderen Bewertungssystemen vergleichen zu können, erfolgte die Umwandlung in die EGFR-Klassifikation (siehe Tabelle 9).

**Tabelle 9:** Umwandlung des EGFR-Scores in die EGFR-Klassifikation

EGFR-Score	EGFR-Klassifikation	Bewertung
0 - 49	0	negativ
50 - 99	1	schwach positiv
100 - 199	2	mäßig positiv
200 - 300	3	stark positiv

#### 4.2.4 Ki-67-Protein

Das Ki-67-Protein gilt als Parameter für die Proliferationsaktivität eines Gewebes. Das Protein findet sich bei Zellen in den aktiven Phasen des Zellzyklus ( $G_1$ -, S-,  $G_2$ - und M-Phase) im Zellkern und wird bei inaktiven Zellen in der  $G_0$ -Phase des Zellzyklus nicht beobachtet. Stark proliferierende Gewebe zeigen demnach viele Ki-67-Protein-positive Zellkerne wohingegen schwach proliferierende Gewebe nur sehr wenig Ki-67 enthalten (Scholzen und Gerdes 2000). Um das Ausmaß der Proliferationsaktivität der Bronchialkarzinome abschätzen zu können, erfolgte eine immunhistochemische Untersuchung der Proben auf das Ki-67-Protein mit Hilfe eines Ki-67-Antikörpers. Die Färbung der Tumore erfolgte nach dem gleichen Vorgehen wie unter 4.2.1.1 beziehungsweise 4.2.1.2 beschrieben. Es wurde der monoklonale Maus-Antikörper MIB-1 der Firma Dako in einer Verdünnung von 1:50 verwendet.

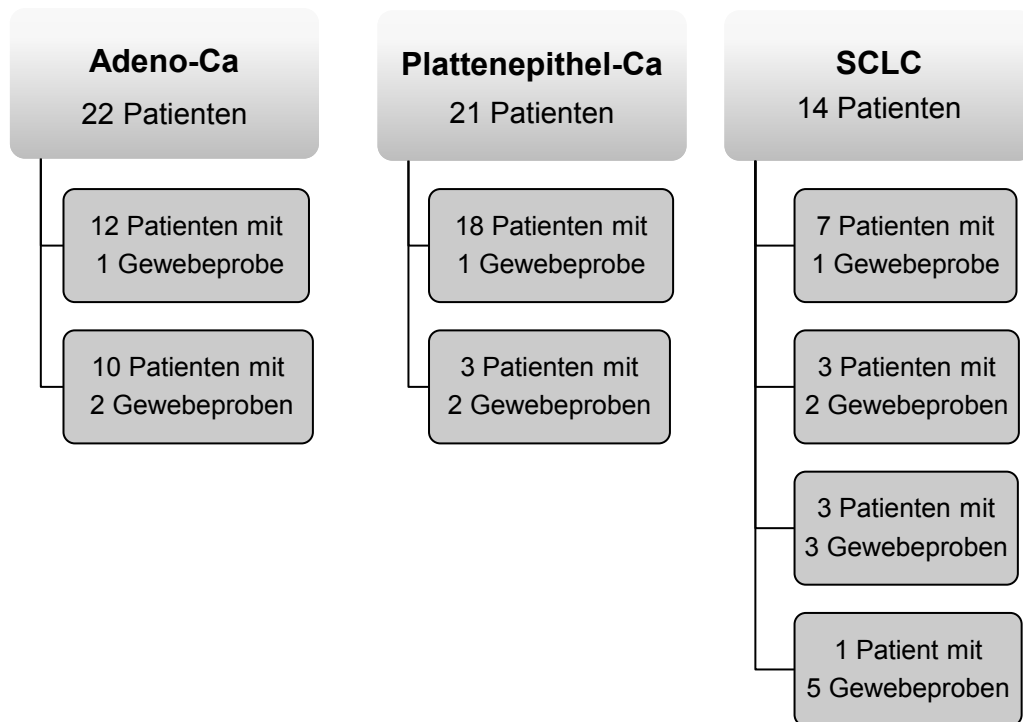
Die Auswertung der Ki-67-Expression erfolgte zunächst im Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Universitätsklinikums Jena durch die mikroskopische Untersuchung der einzelnen Präparate. Dabei wurden pro Präparat bei einer 400-fachen Vergrößerung 10 Hauptgesichtsfelder aus einem repräsentativen Tumorareal analysiert und die positiven Zellkerne manuell ausgezählt. Daraus ergab sich schließlich der Prozentsatz an Ki-67-positiven-Zellen. Anschließend erfolgte eine zweite Auswertung der Tumore durch die Mitarbeiter des Labors für Pathologie und Zytologie in Bad Berka, um die eigenen Ergebnisse zu überprüfen. Bei Abweichungen zwischen beiden Untersuchungsergebnissen erfolgte die erneute gemeinsame Auswertung der jeweiligen Proben.



## 5 Ergebnisse

### 5.1 Patientendaten

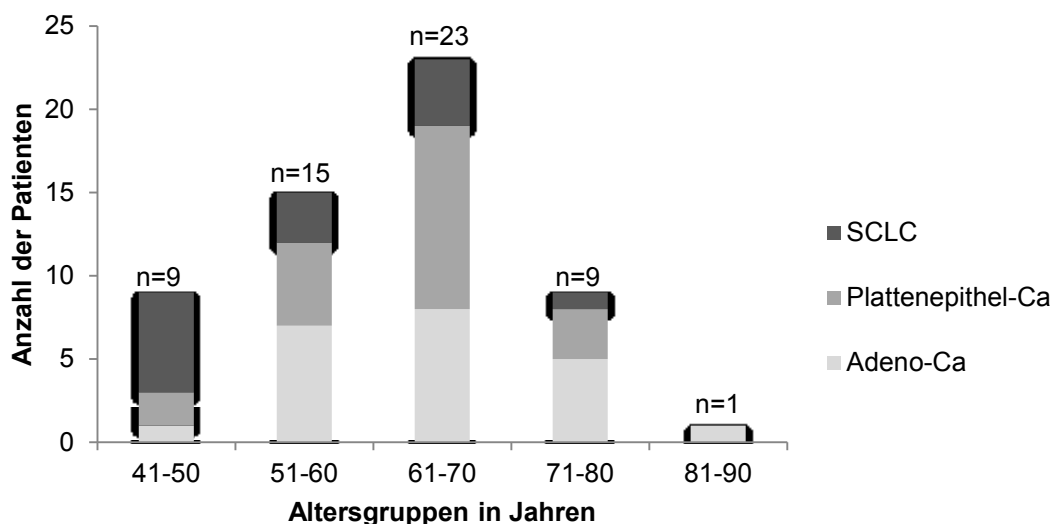
Das Labor für Pathologie und Zytologie in Bad Berka stellte 83 in Paraffin eingebettete Tumorböcke von 57 Patienten zur Verfügung. Dabei teilten sich die Gewebeprobe auf die einzelnen Tumorentitäten wie folgt auf (siehe Abbildung 6):



**Abbildung 6:** Verteilung der Tumorböcke. Ca: Karzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Bei den untersuchten Gewebeprobe handelte es sich ausschließlich um Primärtumore. Das mediane Durchschnittsalter der Patienten betrug zum Diagnosezeitpunkt 62 Jahre und zeigte eine Spannweite von 41 bis 82 Jahren (siehe Abbildung 7). Patienten mit einem Kleinzelligen Bronchialkarzinom erkrankten im Durchschnitt bereits mit 53,5 Jahren, Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom mit 62 Jahren und Patienten mit einem Adenokarzinom erst mit 63,5 Jahren.

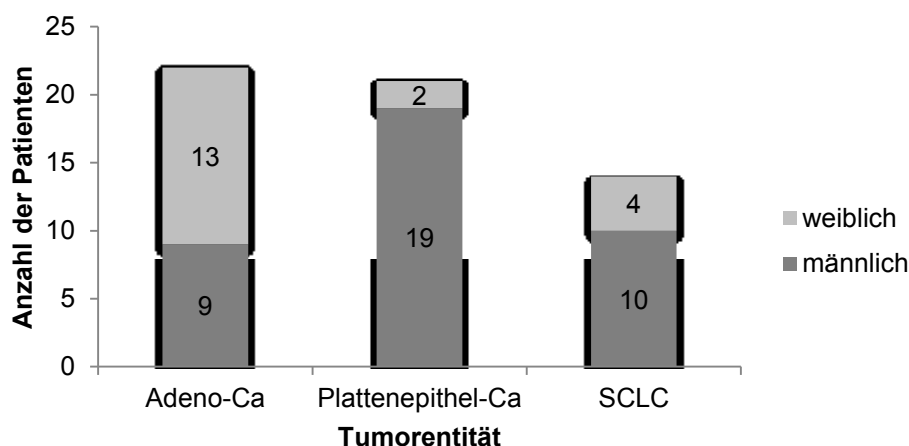
### Altersverteilung der Patienten



**Abbildung 7:** Altersverteilung der Patienten nach Altersgruppen. Ca: Karzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Der Anteil von weiblichen zu männlichen Patienten betrug 19 : 38, wobei Unterschiede in der Geschlechtsverteilung zwischen den drei Tumorentitäten zu verzeichnen waren. Beim Plattenepithelkarzinom und dem Kleinzelligen Bronchialkarzinom überwog der Anteil der Männer deutlich mit 90,5% bzw. 71,4% der Patienten (siehe Abbildung 8). Bei den Adenokarzinomen der Lunge zeigte sich eine ausgeglichene Geschlechterverteilung mit 13 erkrankten Frauen und 9 betroffenen Männern.

### Geschlechtsverteilung



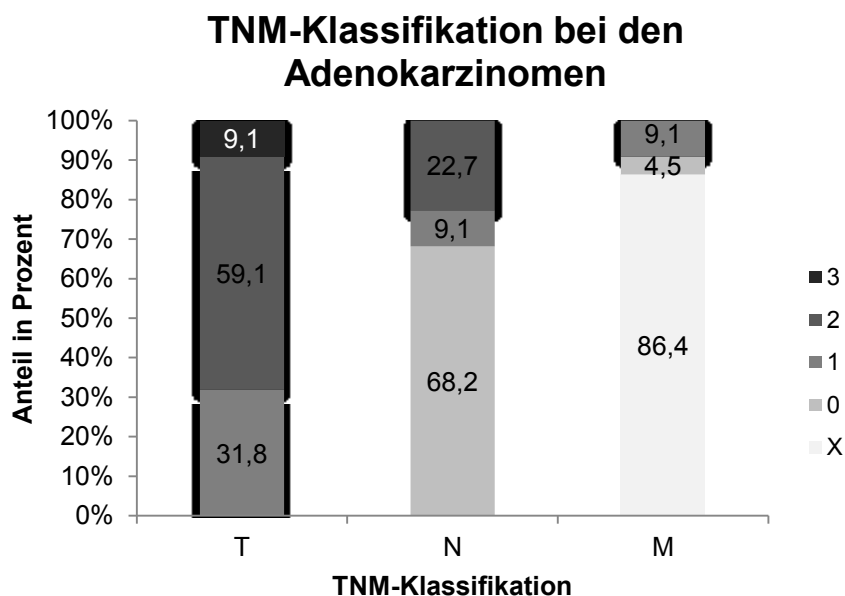
**Abbildung 8:** Geschlechtsverteilung der Patienten nach Tumorentitäten. Ca: Karzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

## 5.2 Klinische Daten

### 5.2.1 TNM-Klassifikation

#### *Adenokarzinom*

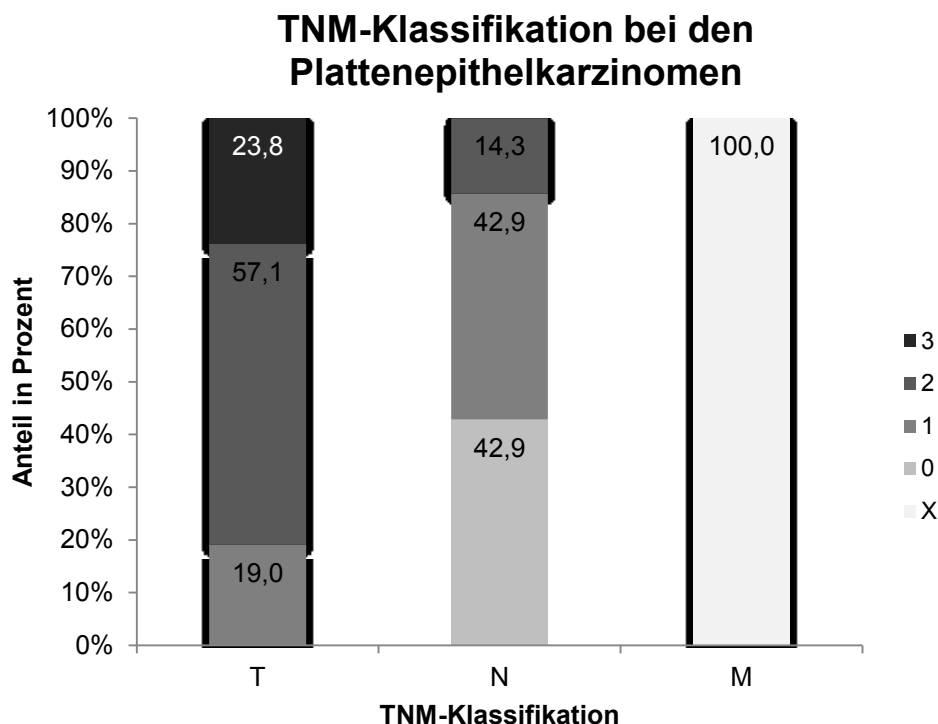
Zum Diagnosezeitpunkt zeigten bereits mehr als die Hälfte aller Patienten mit einem Adenokarzinom der Lunge das Tumor-Stadium T2 bzw. T3 (T2: 59,1%, T3: 9,1%). Bei etwa zwei Drittel der Patienten hatte zu diesem Zeitpunkt noch keine Metastasierung in die Lymphknoten stattgefunden, so dass noch das Stadium N0 vorlag (68,2%). 9,1% der Patienten hatten zum Diagnosezeitpunkt schon Fernmetastasen, was einem M1-Stadium entspricht (siehe Abbildung 9).



**Abbildung 9:** TNM-Klassifikation der untersuchten Adenokarzinome

#### *Plattenepithelkarzinom*

86,1% der Patienten mit Plattenepithelkarzinom wiesen zum Diagnosezeitpunkt ein T1-beziehungsweise T2-Tumorstadium auf (siehe Abbildung 10). Eine Metastasierung in einen oder mehrere Lymphknoten konnte bereits bei etwa jedem zweiten Patienten nachgewiesen werden (N1-Stadium: 42,9%). Bei allen Patienten lag ein Mx-Befund vor, demnach war das Ausmaß der Metastasierung in andere Organe unbekannt.



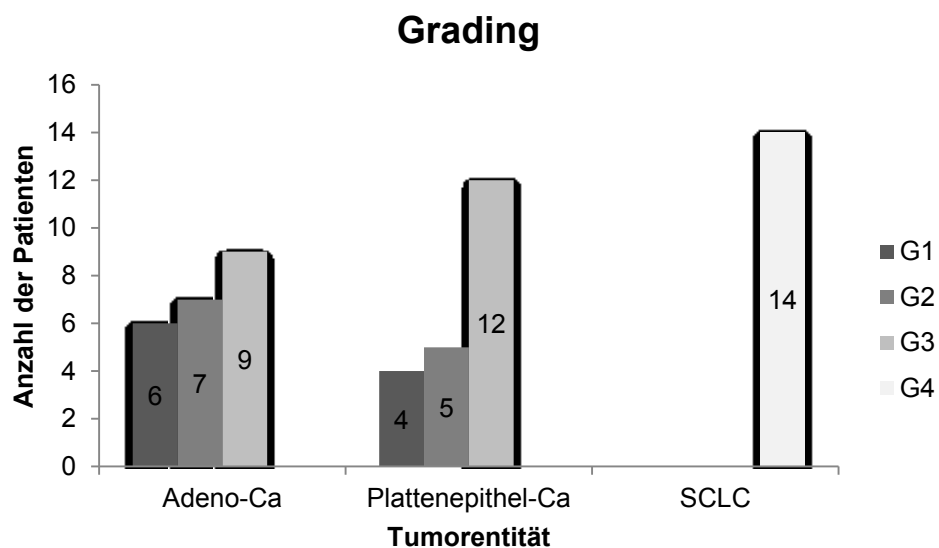
**Abbildung 10:** TNM-Klassifikation der untersuchten Plattenepithelkarzinome

#### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

Die Kleinzelligen Bronchialkarzinome werden, wie oben bereits erwähnt, nicht nach der TNM-Klassifikation eingeteilt, sondern in die sogenannte *limited disease* und *extensive disease* unterteilt. Von den 14 untersuchten Patienten mit einem Kleinzelligen Bronchialkarzinom lagen nur sehr wenige histopathologische Befunde vor, sodass eine graphische Darstellung aufgrund der geringen Fallzahl nicht sinnvoll erschien. Bei einem Patient fanden sich Metastasen, was einem Tumorstadium M1 entspricht. Demnach ist das Bronchialkarzinom bei diesem Patient als *extensive disease* zu bezeichnen. Weitere zwei Patienten wiesen keine Fernmetastasierung auf und gelten somit unabhängig von Tumorgröße und Lymphknotenbefall als *limited disease*. Zwei weitere Patienten wurden von den Pathologen als Mx eingestuft wonach eine Metastasierung nicht beurteilt werden kann. Von den verbleibenden 9 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom fehlten leider sämtliche Angaben zu Tumorgröße, Lymphknotenbefall und Metastasierung.

### 5.2.2 Grading

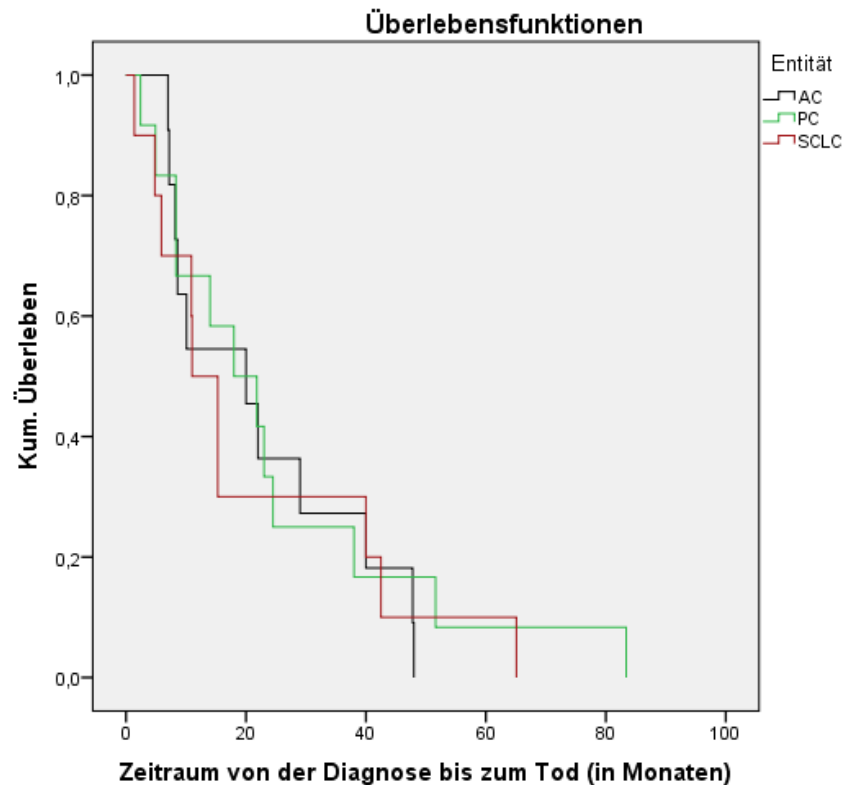
Das Tumor-Grading ist in Abbildung 11 dargestellt und zeigt die verschiedenen Häufigkeiten in den entsprechenden Tumorentitäten. Man unterscheidet hierbei G1-Tumore, also Tumore mit hoher Differenzierung, von G2-Tumoren, den gut differenzierten Tumoren, und G3-Tumoren, den Tumoren mit schlechter Differenzierung. Von 22 Patienten mit einem Adenokarzinom zeigten 6 Patienten ein G1-, 7 Patienten ein G2- und 9 Patienten ein G3-Stadium. 57,1% aller Patienten mit Plattenepithelkarzinom wiesen eine schlechte Differenzierung des Tumors und somit ein G3-Tumorgrading auf. Allen 14 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom wurde ein G4-Stadium zugewiesen.



**Abbildung 11:** Grading der verschiedenen untersuchten Tumorentitäten. Ca: Karzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom, G: Grading

### 5.2.3 Überleben

Die Überlebenszeit nach der Tumordiagnose zeigte in der hier durchgeführten Analyse je nach Tumorentität verschiedene Werte. Patienten mit einem Adenokarzinom lebten im Median weitere 20 Monate nach ihrer Diagnose. Das mediane Überleben der Patienten mit Plattenepithelkarzinom lag bei 18 Monaten und bei den Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom bei nur elf Monaten (siehe Abbildung 12).

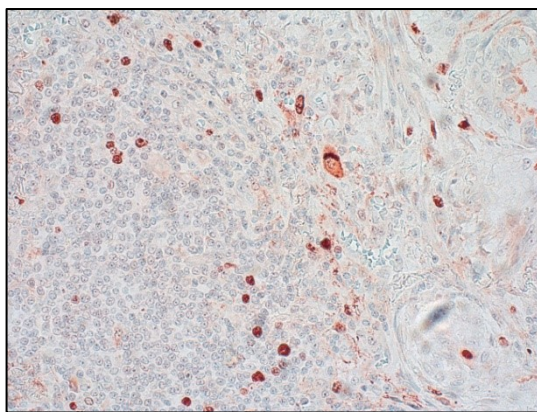


**Abbildung 12:** Darstellung des kumulativen Überlebens der Patienten in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Diagnose und Tod; AC: Adenokarzinom; PC: Plattenepithelkarzinom; SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

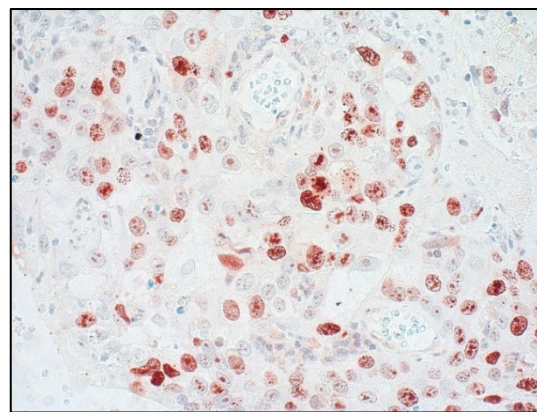
## 5.3 Immunhistochemie

### 5.3.1 Auswertung der Ki-67-Färbung

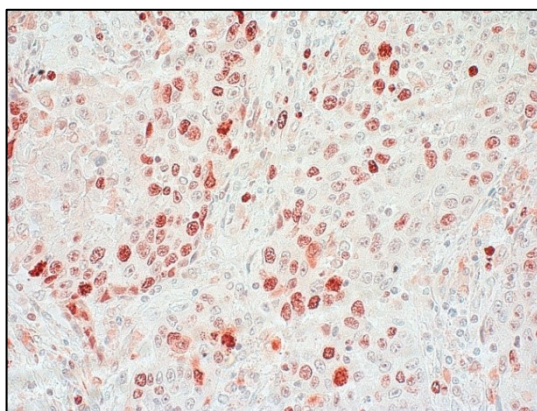
Die Untersuchung der Tumorproben auf das nukleäre Ki-67-Protein erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops bei 400-facher Vergrößerung. Pro Präparat wurden 10 Hauptgesichtsfelder ausgewertet und dabei nur solche Zellen als Ki-67-positiv gewertet, welche eine kräftige Kernfärbung zeigten.



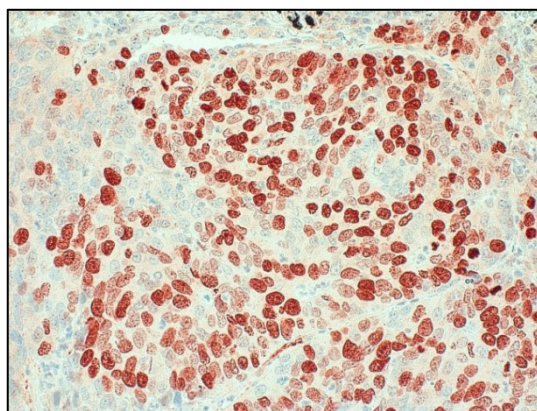
**A** Ki-67-Index: 10%



**B** Ki-67-Index: 40%



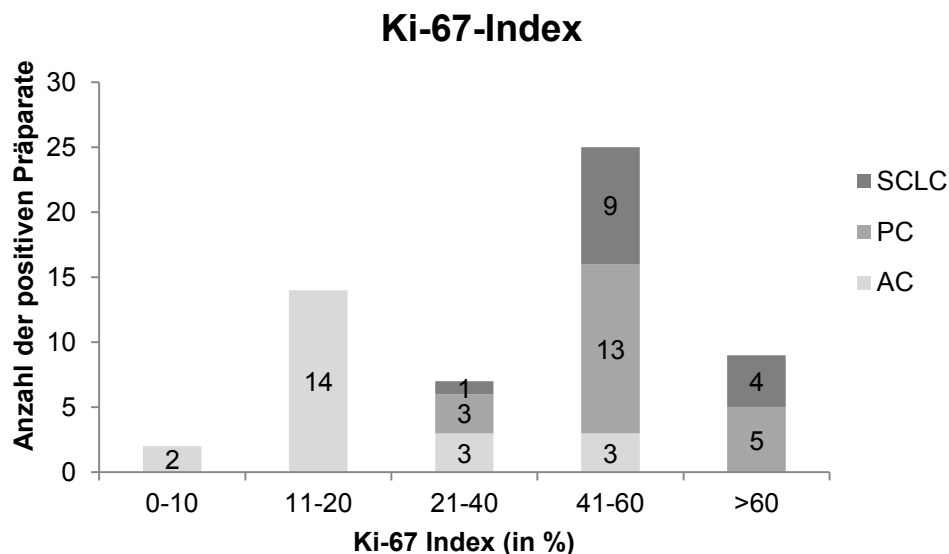
**C** Ki-67-Index: 60%



**D** Ki-67-Index: 80%

**Abbildung 13:** Immunohistochemische Ki-67-Färbung, Originalvergrößerung: 400-fach, A: Adenokarzinom; B, C: Plattenepithelkarzinom; D: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Bei der Auswertung der Färbung fanden sich zwischen den verschiedenen Tumorpräparaten sehr unterschiedliche Ki-67-Verteilungen (siehe Abbildung 13). So zeigte sich eine Spannweite der Ergebnisse von 10 - 90% positiver Tumorzellen. Auch innerhalb der Tumore verhielt sich das Ki-67-Protein zum Teil sehr inhomogen. Es gab Präparate, die stark positive Proliferationsfronten hatten, aber im Tumorrinneren sehr wenig Ki-67-Protein exprimierten. Bei solchen Tumoren wurde schließlich zwischen diesen beiden Ki-67-Werten gemittelt. Die größte Spannweite der Ki-67-Werte zeigten die Adenokarzinome (10% bis 60%) und die Kleinzelligen Bronchialkarzinome (40% bis 90%). Werte kleiner 20% ergaben sich nur für die Adenokarzinome, wohingegen sich bei diesen keine Ki-67-Werte > 60% fanden. Im Gegensatz dazu ergaben sich bei den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen vermehrt hohe Ki-67-Indizes (siehe Abbildung 14).

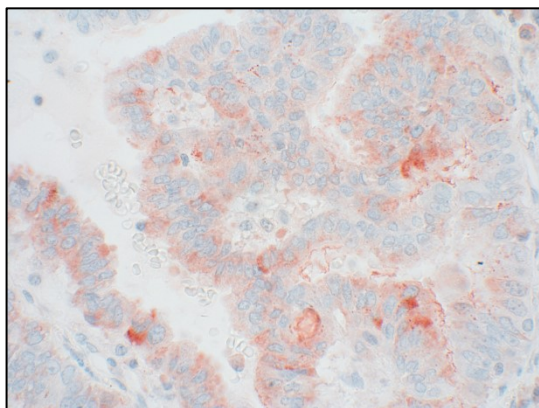
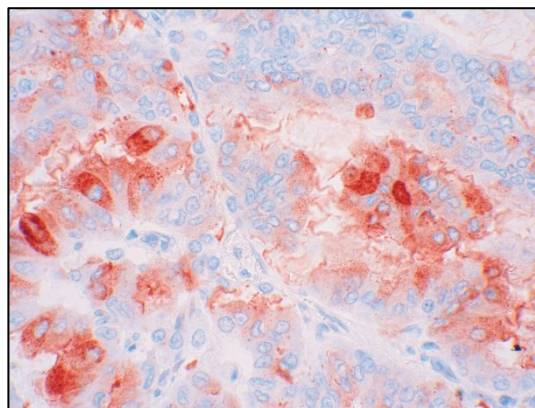
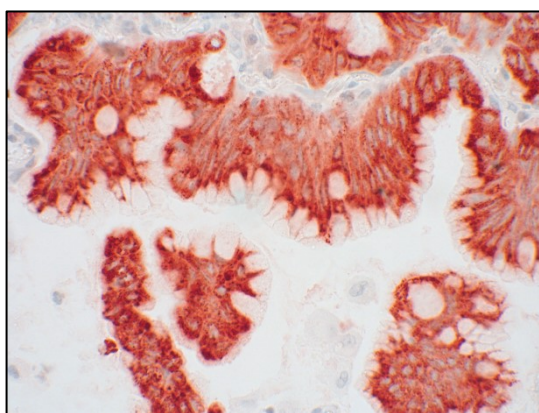
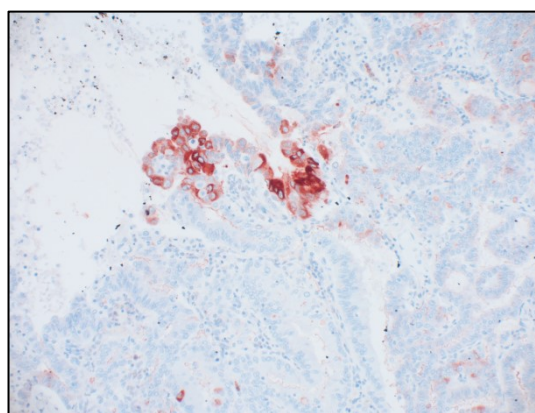


**Abbildung 14:** Ki-67-Index der untersuchten Präparate, aufgeteilt nach den drei verschiedenen Tumor-entitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

### 5.3.2 Auswertung der Somatostatinrezeptor-Färbung

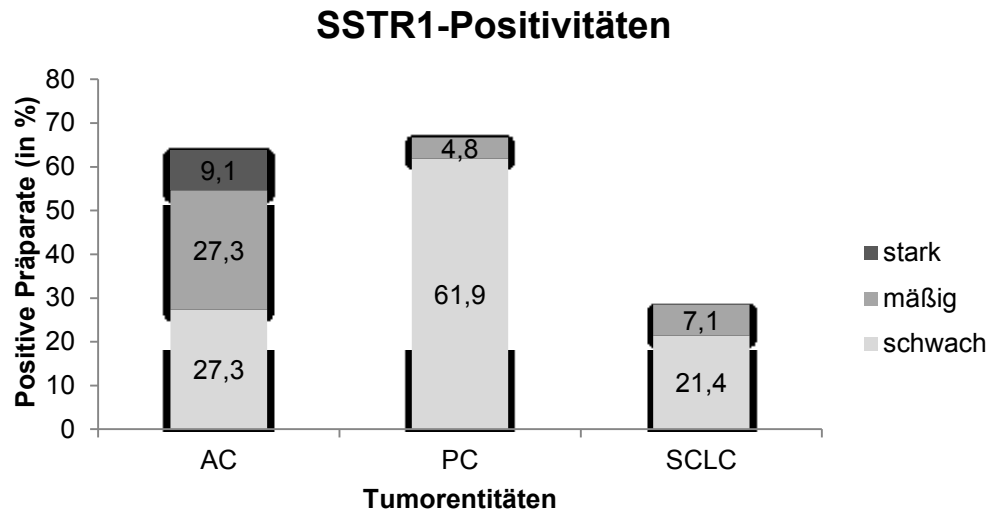
Alle 105 Blöcke wurden immunhistochemisch auf eine Expression der fünf Subtypen der Somatostatinrezeptoren hin untersucht. Dabei zeigten sich sowohl membranständige als auch zytoplasmatische Anfärbungen aller Intensitäten. Bei der Auswertung der Tumorschnitte fiel eine zum Teil sehr starke Heterogenität in der Anfärbung der einzelnen Tumore auf. Die in einigen Fällen beobachtete verstärkte Tumorfärbung an den Schnittträgern wurde als Färbeartefakt betrachtet und daher bei der Bewertung der Färbeintensität nicht mit berücksichtigt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in den folgenden Kapiteln 5.3.2 und 5.3.3 nur die Werte der IRS-Klassifikation dargestellt, da diese zudem mit den Werten des Her2/neu-Scores im Großen und Ganzen gut übereinstimmen. Als positiv galten hierbei alle Tumore ab einem Wert von 1 in der IRS-Klassifikation. Bei Patienten mit mehreren Tumorproben wurden die Werte der einzelnen Tumorschnitte gemittelt.



**SSTR 1****A** SSTR1 – schwache, zytoplasmatische Färbung**B** SSTR1 – mäßige Färbung**C** SSTR1 – starke Färbung**D** SSTR1 – Proliferationszone

**Abbildung 15:** Immunhistochemische SSTR1-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach (A, B, C), 200-fach (D). A, C, D: Adenokarzinom; B: Plattenepithelkarzinom

Bei der immunhistochemischen Untersuchung des SSTR1 zeigten die meisten Tumore eine schwache bis mäßige Färbung des Zytoplasmas der entsprechenden Tumorzellen (siehe Abbildung 15 A, B). Vereinzelt konnten auch stark positive Tumoreareale beobachtet werden (C). Einige Tumore wiesen eine sehr inhomogene Verteilung der SSTR1-Expression auf, wobei nur einzelne Proliferationszonen stark positiv waren und der Rest des Tumors keine Positivitäten zeigte. Ausschließlich bei den Präparaten der Adenokarzinome ergab sich eine starke Färbung. Bei den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen fanden sich nur schwache und mäßige Immunreaktionen.

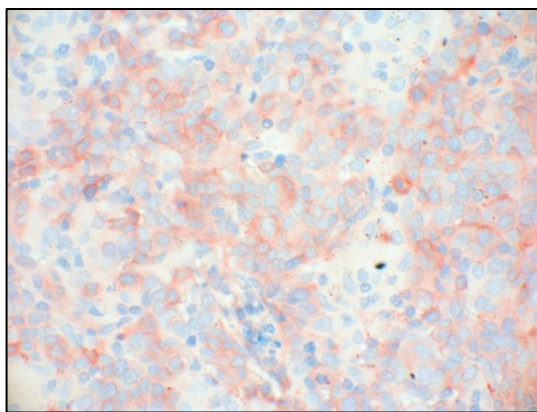
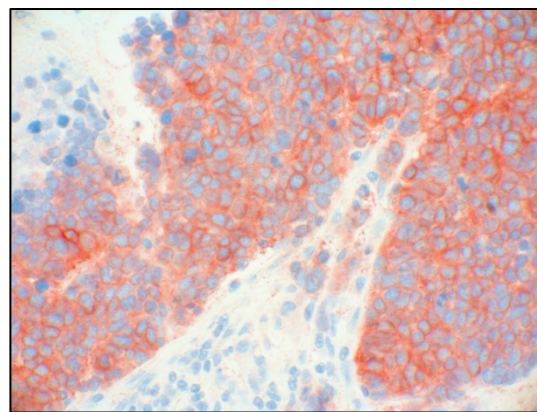
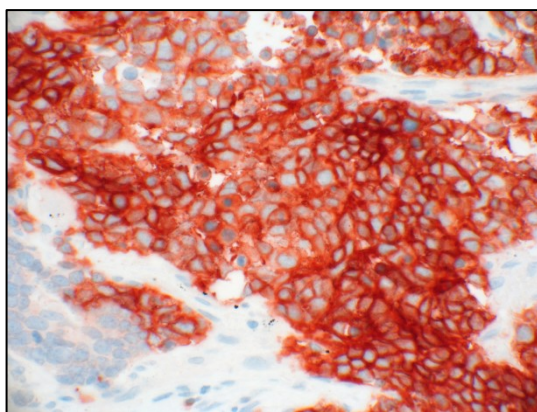
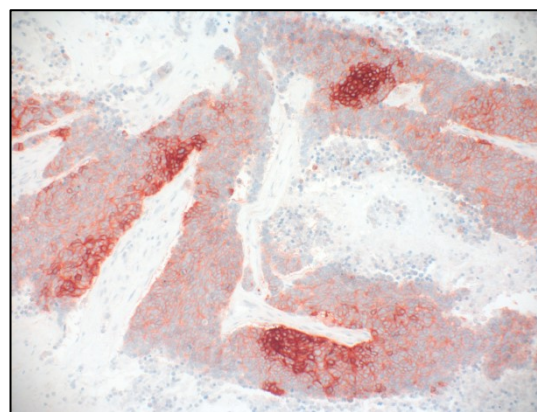


**Abbildung 16:** Darstellung der SSTR1-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

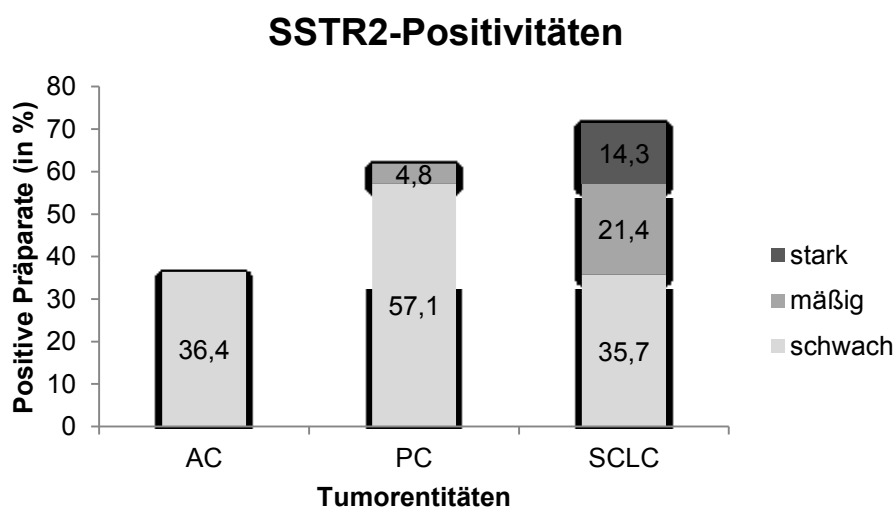
Etwa zwei Drittel der Präparate mit Adenokarzinomen (63,7% der Fälle) und Plattenepithelkarzinomen (66,7% der Tumore) exprimierten den SSTR1 (siehe Abbildung 16). Vergleicht man die drei Entitäten untereinander, so fällt auf, dass nur bei den Adenokarzinomen Präparate mit starker Positivität auftraten (9,1% der Adenokarzinome). Ebenso war bei dieser Tumorart der Anteil der mäßig gefärbten Tumore mit 27,3% im Vergleich zu den beiden anderen Entitäten vergleichsweise hoch. Bei den Plattenepithelkarzinomen wiesen 4,8% der Präparate und bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen 7,1% der Fälle eine mäßige Rezeptorexpression auf.

## SSTR2

Bei der Untersuchung des SSTR2 ergab sich bei allen drei Tumorentitäten eine membranständige Immunreaktion der Tumorzellen (siehe Abbildung 17 A, B, C, D). Die Adenokarzinome waren lediglich schwach positiv (A), und eine mäßige oder starke Färbeintensität konnte hier nicht beobachtet werden. Weiterhin wurde der SSTR2 bei den Adenokarzinomen seltener beobachtet, als bei den beiden anderen Tumorentitäten. Bei den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen fanden sich alle drei Färbeintensitäten (A, B, C). Die intratumorale Positivität verhielt sich sehr unterschiedlich. So gab es Tumore mit sehr homogener Färbung (B) und solche mit inhomogener Positivität und verschieden intensiv gefärbten Tumorearealen (D).

**A** SSTR2 – schwache Färbung**B** SSTR2 – mäßige Färbung**C** SSTR2 – starke Färbung**D** SSTR2 – inhomogene Färbung

**Abbildung 17:** Immunhistochemische SSTR2-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach (A, B, C), 200-fach (D). A: Adenokarzinom; B: Plattenepithelkarzinom; C, D: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

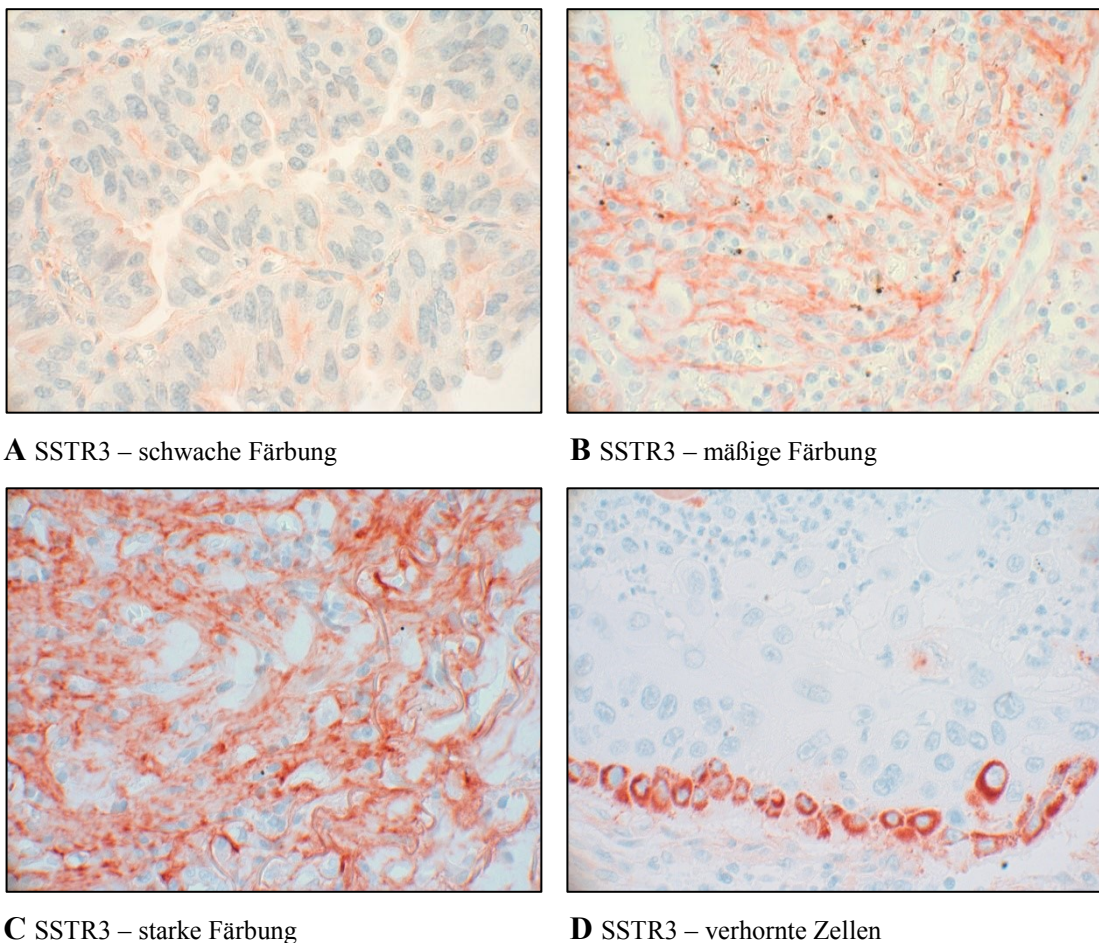


**Abbildung 18:** Darstellung der SSTR2-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom



Bei den Adenokarzinomen waren 36,4% der Tumorpräparate SSTR2-positiv, wobei alle gefärbten Präparate als schwach bewertet wurden. Die Plattenepithelkarzinome zeigten bezüglich des SSTR2 ähnliche Werte wie beim SSTR1 (siehe Abbildung 16 und Abbildung 18). 61,9% der Präparate wiesen eine SSTR2-Expression auf und ein großer Teil dieser Tumore erwies sich als schwach gefärbt (57,1% der Tumore). Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen zeigten 71,4% der Tumorpräparate eine Positivität für den SSTR2, wobei davon 35,7% auf schwache Färbungen, 21,4% auf mäßige Färbungen und weitere 14,3% auf starke Färbungen entfielen.

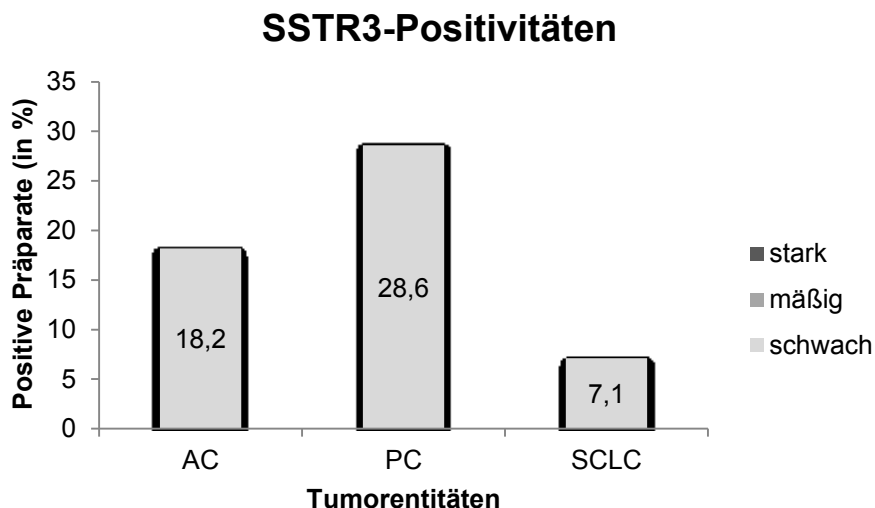
### SSTR3



**Abbildung 19:** Immunhistochemische SSTR3-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach. A: Adenokarzinom; B, C, D: Plattenepithelkarzinom

In allen Tumorentitäten war eine hauptsächlich zytoplasmatisch lokalisierte Immunreaktion (siehe Abbildung 19 A, B, C, D) für den SSTR3 zu sehen. In einigen Präparaten konnten jedoch auch vereinzelt membranständige Färbungen gefunden werden (C). Die meisten Tumore wiesen eine schwache bis mäßige Positivität auf

(A, B). Nur die Plattenepithelkarzinome zeigten Tumorareale mit zum Teil starken Färbungen (C). Allerdings waren diese Bereiche nur so klein, dass auch bei den Plattenepithelkarzinomen insgesamt kein Präparat als mäßig oder stark gefärbt bewertet werden konnte. Zusätzlich fanden sich in einem Präparat eines Plattenepithelkarzinoms stark SSTR3-positive verhornte Tumorzellen, die den ansonsten nicht gefärbten Tumor umrahmten (D).



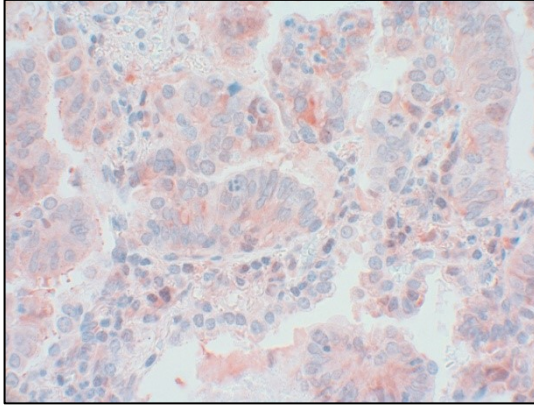
**Abbildung 20:** Darstellung der SSTR3-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Für den SSTR3 wiesen alle drei Entitäten im Vergleich zu den anderen Rezeptoren die wenigsten Positivitäten auf (siehe Abbildung 20). Am häufigsten zeigten dabei mit 28,6% der Fälle die Plattenepithelkarzinome eine SSTR3-Expression. Bei den Adenokarzinomen waren 18,2% und bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen 7,1% der Fälle positiv. In allen drei Entitäten fanden sich ausschließlich schwach gefärbte Präparate.

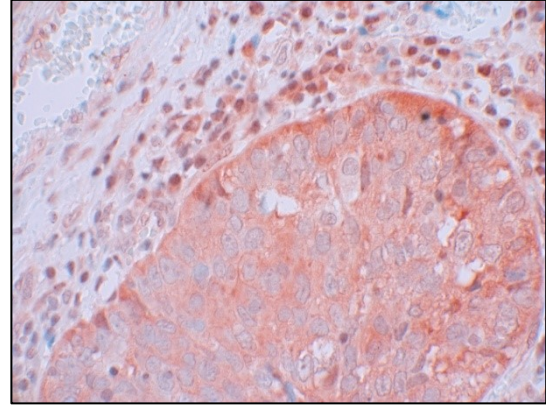
## SSTR4

Bei der Betrachtung des SSTR4 waren bei allen drei Tumorentitäten ausschließlich schwache Färbungen zu sehen. Mäßig und stark gefärbte Tumorareale, wie sie in Abbildung 21 B, C und D zu sehen sind, fanden sich nur an den Rändern der Tumore und wurden als Färbeartefakte gewertet. Bei der Auswertung der immunhistochemischen SSTR4-Färbung fielen bei allen Präparaten unspezifische

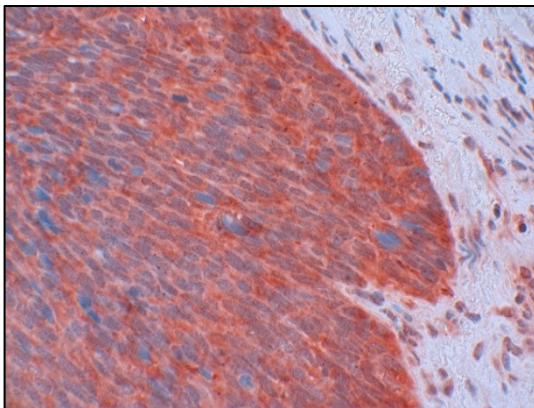
Hintergrundfärbungen auf. Dadurch erwies sich die Auswertung der Tumore insgesamt als sehr schwierig.



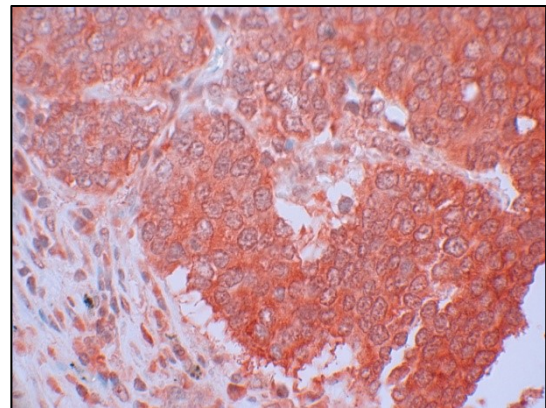
**A** SSTR4 – schwache Färbung



**B** SSTR4 – mäßige Färbung

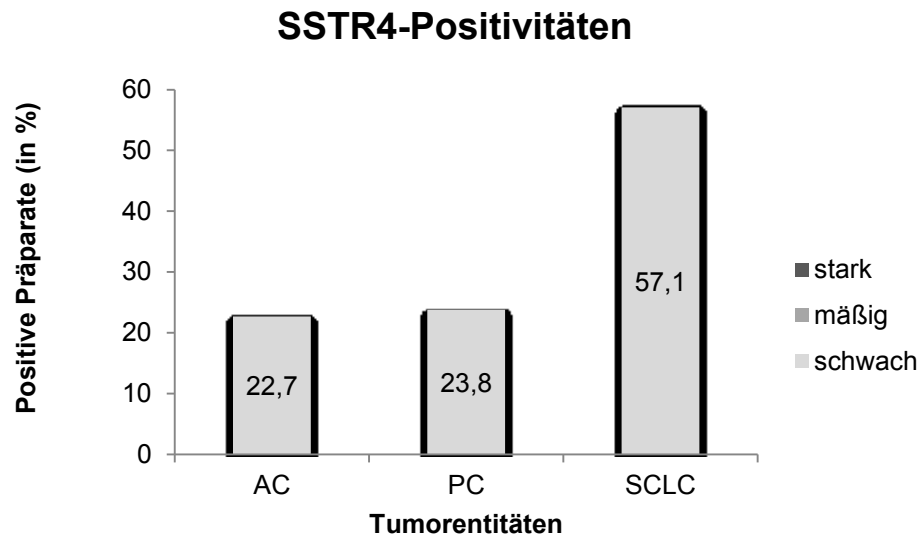


**C** SSTR4 – starke Färbung bei NSCLC



**D** SSTR4 – starke Färbung bei SCLC

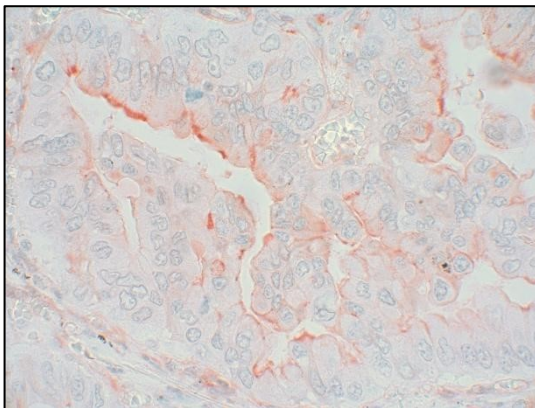
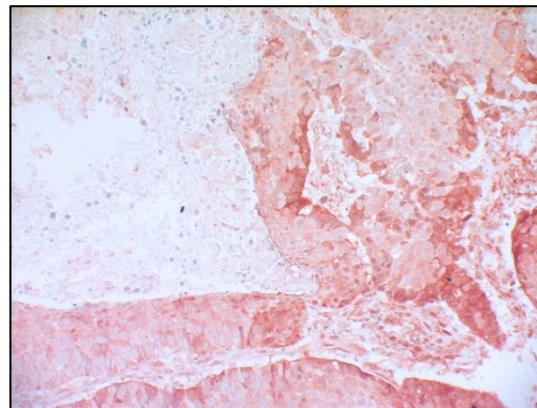
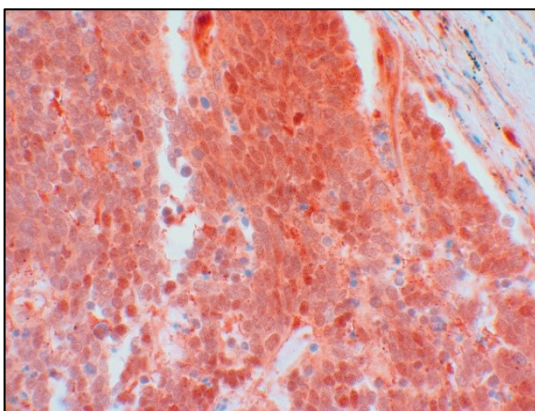
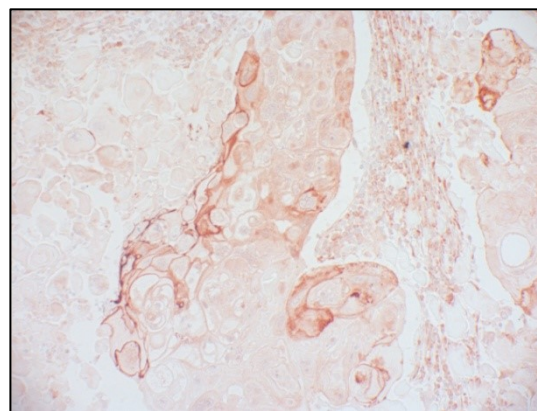
**Abbildung 21:** Immunhistochemische SSTR4-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach. A: Adenokarzinom; B, C: Plattenepithelkarzinom; D: Kleinzelliges Bronchialkarzinom



**Abbildung 22:** Darstellung der SSTR4-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Für den SSTR4 ergaben sich bei den Adenokarzinomen und den Plattenepithelkarzinomen ähnliche Häufigkeiten an positiv gefärbten Präparaten (Adenokarzinom: 22,7% der Tumore, Plattenepithelkarzinom: 23,8% der Fälle). Die meisten positiven Fälle fanden sich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen mit 57,1% SSTR4-positiven Präparaten. Unabhängig von der Tumorentität ergaben sich für den SSTR4 lediglich schwache Immunreaktionen (siehe Abbildung 22).

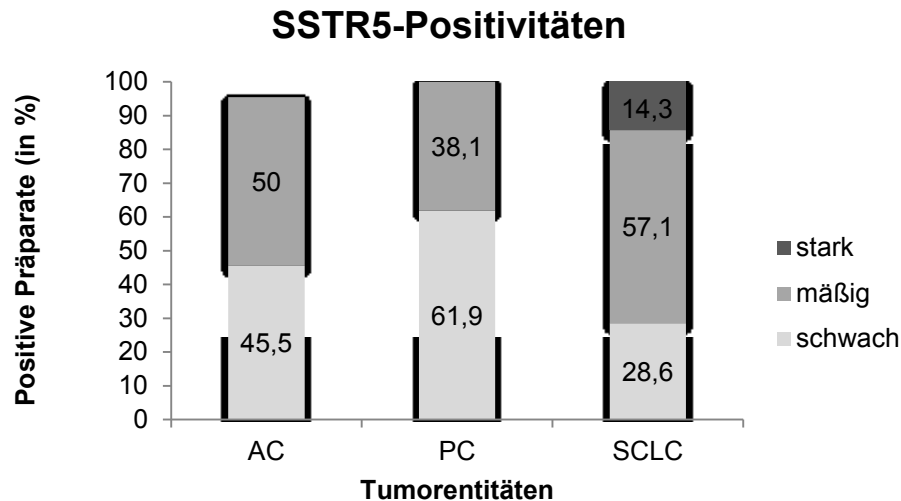


**SSTR5****A** SSTR5 – schwache Färbung**B** SSTR5 – mäßige Färbung**C** SSTR5 – starke Färbung**D** SSTR5 – verhornte Zellen

**Abbildung 23:** Immunhistochemische SSTR5-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach (A, B, C), 200-fach (D). A: Adenokarzinom; B, D: Plattenepithelkarzinom, C: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Beim SSTR5 fanden sich sehr homogene Färbemuster (siehe Abbildung 23 A, B, C). Die meisten Tumore zeigten eine zytoplasmatische Anfärbung (B, C). Nur vereinzelt konnte eine membranständige Immunreaktion verzeichnet werden (A). Alle Tumorentitäten wiesen sämtliche Färbintensitäten auf. In einem Präparat eines Plattenepithelkarzinoms fanden sich verhornte Zellen, die eine zarte membranständige Färbung erkennen ließen (D).

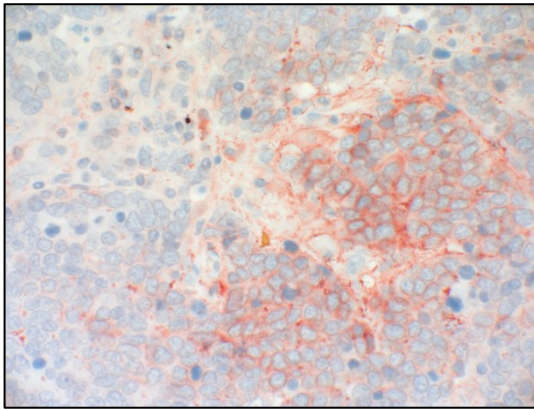




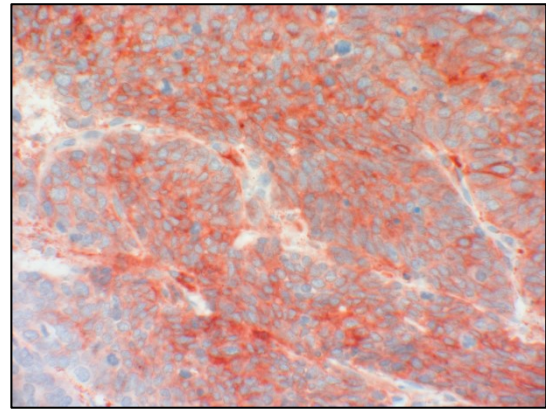
**Abbildung 24:** Darstellung der SSTR5-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Neben dem im Folgenden beschriebenen CXCR4 wies der SSTR5 die meisten Positivitäten in allen drei Tumorentitäten auf (siehe Abbildung 24). 95,5% der Adenokarzinome, alle Plattenepithelkarzinome und alle Kleinzelligen Bronchialkarzinome waren SSTR5-positiv. Bei den Adenokarzinomen fanden sich 45,5% schwache sowie 50,5% mäßige Immunreaktionen. Ähnliche Verhältnisse zeigten sich auch bei den Plattenepithelkarzinomen mit 61,9% schwach und 38,1% mäßig gefärbten Tumoren. Eine starke Immunreaktion ergab sich ausschließlich für die Kleinzelligen Bronchialkarzinome (14,3% der Fälle).

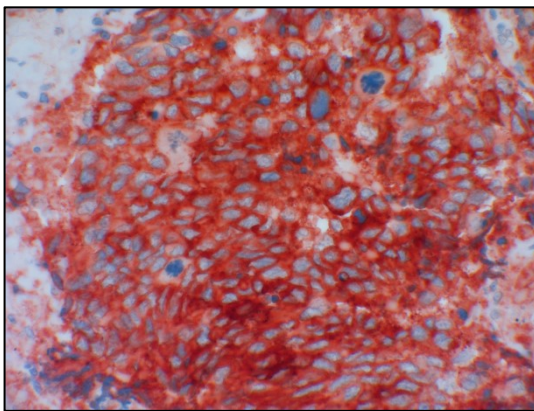
### 5.3.3 Auswertung der CXCR4-Färbung



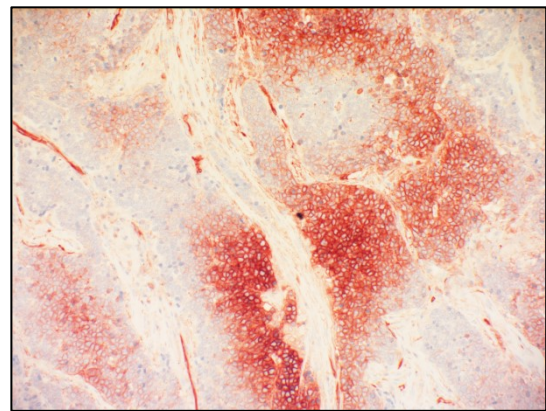
**A** CXCR4 – schwache Färbung



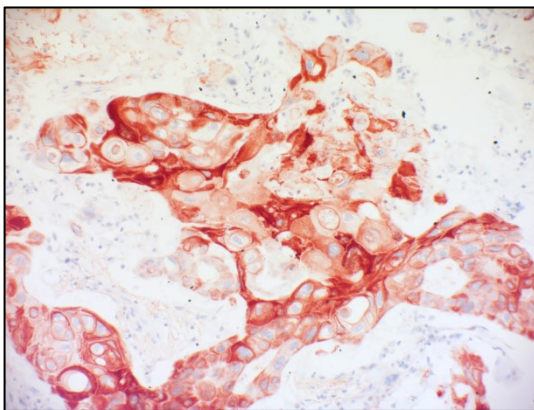
**B** CXCR4 – mäßige Färbung



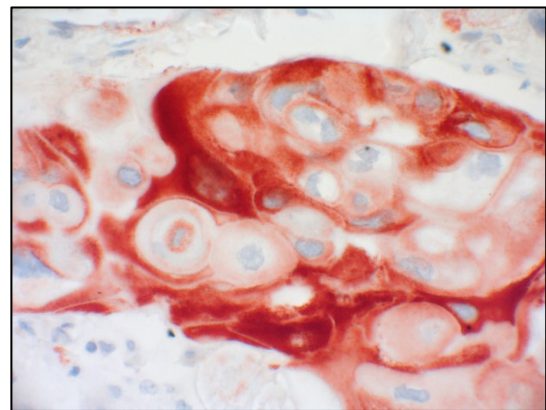
**C** CXCR4 – starke Färbung



**D** CXCR4 – inhomogene Färbung

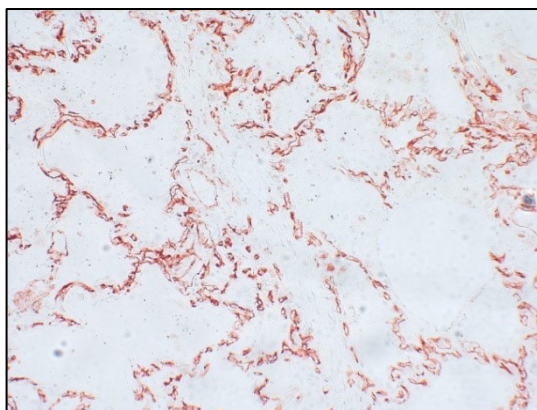
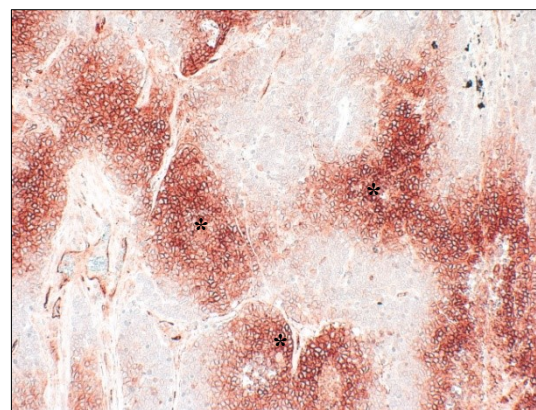


**E** CXCR4 – verhornte Zellen



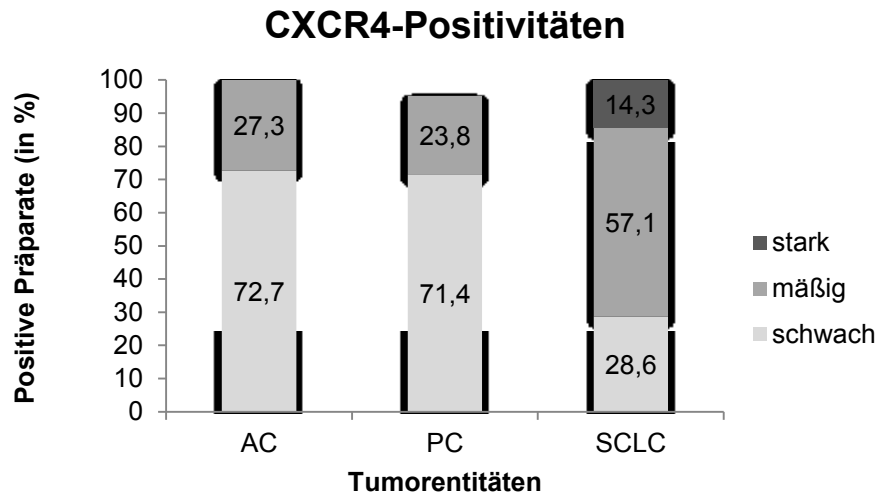
**F** CXCR4 – verhornte Zellen

**Abbildung 25A:** Immunhistochemische CXCR4-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 630-fach (A, B, C, F), 200-fach (D, E). A: Adenokarzinom; E, F: Plattenepithelkarzinom; B, C, D: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

**G** CXCR4 – Gefäßanfärbung**H** CXCR4 – Proliferationsfronten

**Abbildung 25B:** Immunhistochemische CXCR4-Färbung (rotbraun), Gegenfärbung mit Hämatoxylin, Originalvergrößerung: 200-fach (G, H). G, H: Kleinzelliges Bronchialkarzinom, Proliferationsfronten mit \* gekennzeichnet

Bei der Untersuchung des CXCR4 zeigten sich membranständig gefärbte Tumorzellen (siehe Abbildung 25 A, B, C, D). Alle untersuchten Tumorentitäten wiesen sowohl schwache (A), als auch mäßige (B) und starke Färbeintensitäten auf (C, D). Innerhalb der Tumore gab es bezüglich der Homogenität der Färbung unterschiedliche Befunde. So fand sich bei den meisten Präparaten ein relativ homogenes Immunsignal (B). Nur einige wenige Tumore waren sehr inhomogen gefärbt (D). Wie schon bei der Untersuchung der SSTRs konnte auch bei der CXCR4-Färbung eine Positivität der verhornten Zellen der Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden (E, F). Hierbei zeigte sich eine membranständige Färbung, die zum Teil in eine zytoplasmatische Immunreaktion überzugehen schien. Weiterhin waren die Gefäßendothelien des Tumorstromas positiv (G). In einigen Tumorpräparaten konnte man eine inhomogene Anfärbung erkennen, die eine Zunahme der Färbeintensität zum Rand des Tumors hin andeutete (H). Möglicherweise entsprechen diese verstärkt gefärbten Zellen einer Proliferationsfront (Sterne in H).



**Abbildung 26:** Darstellung der CXCR4-Positivitäten bei den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

In Bezug auf den CXCR4 wurden alle Adenokarzinome angefärbt, wobei 72,7% der Tumore schwach und 27,3% mäßig positiv waren (siehe Abbildung 26). Die Plattenepithelkarzinome waren zu 95,2% CXCR4-positiv, wiesen aber keine starke Immunreaktion auf. Beim Plattenepithelkarzinom fanden sich ähnliche Werte wie bei den Adenokarzinomen mit 71,4% schwachen und 23,8% mäßigen Immunfärbungen. Alle Präparate der Kleinzelligen Bronchialkarzinome waren CXCR4-positiv, wobei der größte Teil mäßig gefärbt war (57,1% der Fälle). 14,3% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome wurden als stark positiv bewertet.

#### 5.3.4 Expressionsmuster

Um herauszufinden, welche Rezeptorsubtypen gehäuft miteinander auftreten, wurden verschiedene Kombinationen von Rezeptorpositivitäten dargestellt. Als positiv galten alle Werte, die in der IRS-Klassifikation größer gleich 1 waren, beziehungsweise solche, die einen Her2/neu-Score größer gleich 1 aufwiesen.

##### 5.3.4.1 Expressionsmuster bei den Adenokarzinomen

Bei den Präparaten mit Adenokarzinomen konnten für die IRS-Klassifikation 11 und für den Her2/neu-Score 13 verschiedene Expressionsmuster gefunden werden (siehe Tabelle 10). Bezüglich der Häufigkeiten der einzelnen Expressionsmuster zeigten sich

zwischen beiden Klassifikationen Abweichungen, wobei das Expressionsmuster, das in der IRS-Klassifikation mit 18,18% der Fälle am meisten auftrat, eine Positivität für die Rezeptoren SSTR1, SSTR4, SSTR5 und CXCR4 aufwies. Bei der Bewertung mit dem Her2/neu-Score fand sich bei den Adenokarzinomen mit 22,71% der Fälle als häufigstes Expressionsmuster das gleichzeitige Auftreten des SSTR1-, SSTR2-, SSTR4-, SSTR5- und CXCR4-Rezeptors. In beiden Bewertungssystemen gab es kein Präparat, welches für alle sechs Rezeptorsubtypen komplett negativ war. Weiterhin war zu erkennen, dass alle Expressionsmuster eine Positivität für den CXCR4 enthielten, und 15 der 16 verschiedenen Rezeptorkombinationen zusätzlich eine SSTR5-Expression zeigten. Beim Vergleich der Expressionsmuster zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score fanden sich bezüglich der Häufigkeiten allerdings größere Unterschiede und keine einheitliche Reihenfolge.

**Tabelle 10:** Expressionsmuster bei den untersuchten Adenokarzinomen

Expressionsmuster						Häufigkeit	
SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5	CXCR4	IRS	Her2/neu
+	-	-	+	+	+	4 (18,18%)	2 (9,09%)
+	+	-	-	+	+	3 (13,63%)	2 (9,09%)
-	-	-	-	+	+	3 (13,63%)	1 (4,54%)
+	-	-	-	+	+	3 (13,63%)	1 (4,54%)
+	-	+	-	+	+	2 (9,09%)	3 (13,63%)
-	+	-	-	+	+	2 (9,09%)	0
+	+	-	+	+	+	1 (4,54%)	5 (22,71%)
-	-	-	-	-	+	1 (4,54%)	1 (4,54%)
+	+	+	-	+	+	1 (4,54%)	1 (4,54%)
-	-	-	-	+	+	1 (4,54%)	1 (4,54%)
-	+	+	-	+	+	1 (4,54%)	0
-	-	+	+	+	+	0	1 (4,54%)
+	-	+	+	+	+	0	1 (4,54%)
+	+	+	+	+	+	0	1 (4,54%)
-	+	+	+	+	+	0	1 (4,54%)
-	+	-	+	+	+	0	1 (4,54%)
+ : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score $\geq 1$							
- : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score $< 1$							

#### 5.3.4.2 Expressionsmuster bei den Plattenepithelkarzinomen

Bei der Untersuchung der Tumorpräparate mit Plattenepithelkarzinomen fanden sich für die IRS-Klassifikation elf und für den Her2/neu-Score zehn verschiedene Expressionsmuster (siehe Tabelle 11). Die IRS-Klassifikation zeigte am häufigsten

Positivitäten für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR5 und CXCR4 (23,81% der Fälle). Beim Her2/neu-Score kamen mit 33,33% der Fälle der SSTR1-, der SSTR2-, der SSTR4-, der SSTR5- und der CXCR4-Rezeptor gemeinsam vor. Bei diesem Score fand sich auch ein Präparat mit einem durchweg positiven Rezeptorbesatz. Auch bei den Plattenepithelkarzinomen ließen sich starke Unterschiede in den Häufigkeiten des Auftretens der Expressionsmuster zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score erkennen. Beim Vergleich der ersten beiden Expressionsmuster in Tabelle 11 fiel auf, dass sich beide Scores vor allem in Bezug auf den SSTR4 unterscheiden. Beim Her2/neu-Score waren häufige Expressionsmuster meist mit einer SSTR4-Positivität verbunden, während nach der IRS-Klassifikation der SSTR4 oft negativ war. Unabhängig vom Bewertungssystem zeigten alle Plattenepithelkarzinome eine SSTR5-Expression und lediglich 4,76% der Präparate waren CXCR4-negativ.

**Tabelle 11:** Expressionsmuster bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

Expressionsmuster						Häufigkeit	
SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5	CXCR4	IRS	Her2/neu
+	+	-	-	+	+	5 (23,81%)	1 (4,76%)
+	+	-	+	+	+	3 (7%)	7 (33,33%)
+	+	+	-	+	+	2 (9,52%)	2 (9,52%)
-	-	+	-	+	+	2 (9,52%)	1 (4,76%)
+	-	-	-	+	+	2 (9,52%)	0
-	+	-	-	+	+	2 (9,52%)	0
+	-	-	+	+	+	1 (4,76%)	3 (14,29%)
-	-	-	-	+	-	1 (4,76%)	1 (4,76%)
-	-	-	+	+	+	1 (4,76%)	0
+	-	+	-	+	+	1 (4,76%)	1 (4,76%)
-	+	+	-	+	+	1 (4,76%)	0
-	+	-	+	+	+	0	2 (9,52%)
-	+	+	+	+	+	0	2 (9,52%)
+	+	+	+	+	+	0	1 (4,76%)
+ : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score						≥ 1	
- : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score						< 1	

#### 5.3.4.3 Expressionsmuster bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

Bei beiden Bewertungssystemen zeigten die Tumorpräparate mit Kleinzelligen Bronchialkarzinomen sieben verschiedene Expressionsmuster, wobei die häufigste Konstellation eine Positivität für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und



CXCR4 war (IRS-Klassifikation: 21,43% der Präparate, Her2/neu-Score: 35,71% der Fälle, siehe Tabelle 12). Alle Präparate waren für den SSTR5 und den CXCR4 positiv.

**Tabelle 12:** Expressionsmuster bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

Expressionsmuster						Häufigkeit	
SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5	CXCR4	IRS	Her2/neu
+	+	-	+	+	+	3 (21,43%)	5 (35,71%)
-	+	-	-	+	+	3 (21,43%)	2 (14,29%)
-	-	-	+	+	+	2 (14,29%)	3 (21,43%)
-	+	-	+	+	+	2 (14,29%)	1 (7,14%)
-	-	-	-	+	+	2 (14,29%)	1 (7,14%)
+	+	-	-	+	+	1 (7,14%)	1 (7,14%)
-	+	+	+	+	+	1 (7,14%)	0
+	+	+	+	+	+	0	1 (7,14%)
+ : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score					$\geq 1$		
- : IRS-Klassifikation; Her2/neu-Score					$< 1$		

### 5.3.5 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten, aufgeteilt nach Tumorentitäten

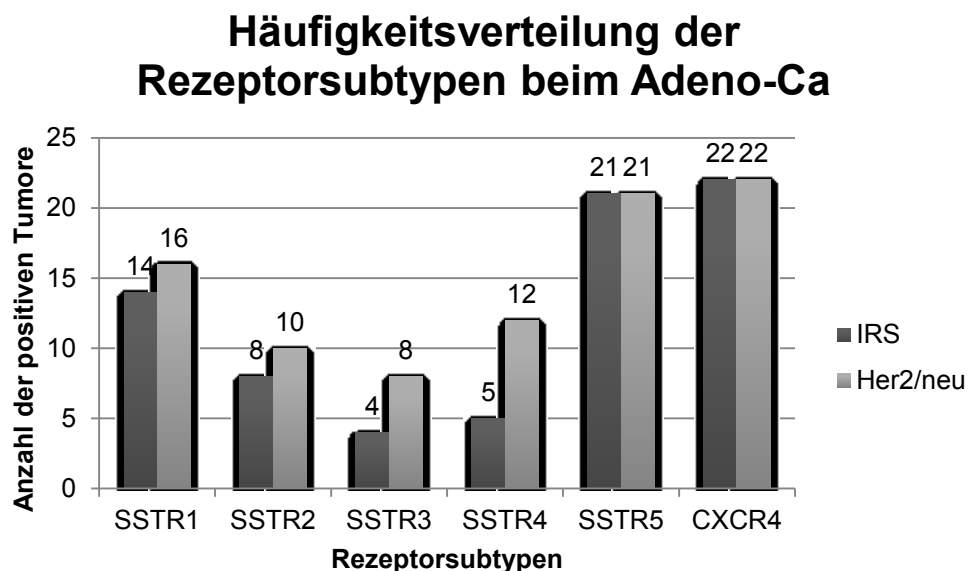
Bisher wurden jeweils die einzelnen Rezeptoren bezüglich ihrer Häufigkeiten in den drei Tumorentitäten betrachtet. Im Folgenden werden nun die einzelnen Tumorentitäten hinsichtlich ihrer Rezeptorexpression beurteilt. Auch hier wurden zunächst alle Tumore als positiv bewertet, die eine IRS-Klassifikation größer oder gleich 1, beziehungsweise einen Her2/neu-Score größer 0 aufwiesen. Alle Tumore unterhalb dieser festgelegten Grenzwerte galten als negativ. Da von einigen Patienten mehrere Tumorproben vorhanden waren, wurden aus den einzelnen Werten Mittelwerte gebildet, so dass jeder Patient nur einen Wert für den entsprechenden Rezeptor erhielt.

#### 5.3.5.1 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Adenokarzinomen

##### *Häufigkeitsverteilung*

Insgesamt wurden von 22 Patienten Präparate mit Adenokarzinomen angefärbt und beurteilt. Die Expressionshäufigkeit der Rezeptoren nach der IRS-Klassifikation entspricht  $CXCR4 > SSTR5 > SSTR1 > SSTR2 > SSTR4 > SSTR3$ , wobei sich der CXCR4 und der SSTR5 in der Anzahl an positiv gefärbten Präparaten kaum

unterschieden (siehe Abbildung 27 und Tabelle 13). Der SSTR3 wurde bei den Adenokarzinomen am seltensten angefärbt. Beim Vergleich zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score zeigte sich eine Übereinstimmung bei der Anzahl an positiven Tumorpräparaten in Bezug auf die Rezeptoren SSTR5 und CXCR4. Die größte Abweichung zwischen den beiden Bewertungssystemen fand sich bei den Rezeptorsubtypen SSTR3 und SSTR4.



**Abbildung 27:** Häufigkeitsverteilung der Rezeptorsubtypen bei den untersuchten Adenokarzinomen

#### *Stärke der Rezeptorpositivität*

Nachdem in Abbildung 27 bereits auf die Anzahl der positiven Rezeptoren eingegangen wurde, folgt nun die Betrachtung der Intensität der Rezeptorfärbung mit Hilfe von Tabelle 13. Hierbei stehen Scorewerte von 1, 2 und 3 für die Färbeintensitäten schwach, mäßig und stark. Keine Anfärbung wurde mit einer 0 bewertet. Es wurden jeweils die Mittelwerte aus den für alle Rezeptoren ermittelten Werten gebildet. Dabei zeigte sich für die IRS-Klassifikation folgende Reihenfolge der Mittelwerte: SSTR5 > CXCR4 > SSTR1 > SSTR2 > SSTR4 > SSTR3. Bei den Rezeptorsubtypen SSTR3 und SSTR4 ergaben sich die niedrigsten Mittelwerte, was einerseits daran liegt, dass nur wenige der Tumorpräparate eine Immunreaktion zeigten und diese meist auch nur schwach ausgeprägt war. Die höchsten Mittelwerte fanden sich für den SSTR5 (IRS-Klassifikation: 1,45, Her2/neu-Score: 1,55) und den CXCR4 (IRS-Klassifikation: 1,27, Her2/neu-Score: 1,5), was darauf hindeutet, dass bei diesen beiden Rezeptoren die höchsten Färbestärken gefunden wurden.



**Tabelle 13:** Anzahl der positiven Fälle und Intensitäten der Immunfärbungen für die verschiedenen Rezeptorsubtypen nach der IRS-Klassifikation (IRS) und dem Her2/neu-Score (Her2) für die untersuchten Adenokarzinome

	SSTR1		SSTR2		SSTR3		SSTR4		SSTR5		CXCR4	
	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2
<b>Punktezahl</b>												
Minimum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Maximum	3	3	1	1	1	1	1	2	2	3	2	3
Mittelwert	1,09	1,36	0,36	0,45	0,18	0,36	0,23	0,59	1,45	1,55	1,27	1,5
<b>Positive Fälle</b>												
Anzahl	14	16	8	10	4	8	5	12	21	21	22	22
Prozent	63,63	72,72	36,36	45,45	18,18	36,36	22,72	54,54	95,45	95,45	100,00	100,00

### SSTR1

Nach der IRS-Klassifikation wiesen 14 der 22 Adenokarzinome eine SSTR1-Färbung auf (63,6% der Fälle). 36,4% der Präparate waren negativ (siehe Tabelle 14) und stellen damit den größten Teil der Tumore dar. 27,3% der Adenokarzinome zeigten eine schwache und weitere 27,3% eine mäßige Immunreaktion. Die restlichen 9,1% der Tumorpräparate konnten nach der IRS-Klassifikation als stark gefärbt bewertet werden. Die Auswertung mit Hilfe des Her2/neu-Scores ergab deutliche Unterschiede zur IRS-Klassifikation. So konnte zum Beispiel mit 22,7% der Fälle ein wesentlich größerer Anteil an stark gefärbten Adenokarzinomen verzeichnet werden. Weiterhin fanden sich nach der Her2/neu-Klassifikation mit 18,2% der Präparate deutlich weniger mäßig gefärbte Tumore. Der Anteil der Tumore mit schwacher Immunreaktion fiel ähnlich groß wie bei der IRS-Klassifikation aus (IRS-Klassifikation: 27,3% der Fälle, Her2/neu-Score: 31,8% der Tumore).

**Tabelle 14:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR1 bei den untersuchten Adenokarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	8	36,4	<b>0</b>	6	27,3
<b>1</b>	6	27,3	<b>1</b>	7	31,8
<b>2</b>	6	27,3	<b>2</b>	4	18,2
<b>3</b>	2	9,1	<b>3</b>	5	22,7

## SSTR2

Bei der Mehrheit der Präparate ergab sich sowohl bei der IRS-Klassifikation mit 63,6% der Tumore als auch beim Her2/neu-Score mit 54,5% der Fälle keine Rezeptorfärbung für den SSTR2 (siehe Tabelle 15). Die restlichen Präparate waren ausschließlich schwach positiv (IRS-Klassifikation: 36,4% der Fälle, Her2/neu-Score: 45,5% der Präparate).

**Tabelle 15:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR2 bei den untersuchten Adenokarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	14	63,6	<b>0</b>	12	54,5
<b>1</b>	8	36,4	<b>1</b>	10	45,5
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	0	0,0
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

## SSTR3

Wie aus Abbildung 27 zu ersehen ist, wiesen nur wenige Präparate eine positive Immunreaktion für den SSTR3 auf. Demnach war der SSTR3 der Rezeptor mit der geringsten Expressionsrate. Nach der IRS-Klassifikation konnten 4 von 22 Adenokarzinomen als schwach positiv bewertet werden, was einem Anteil von 18,2% entspricht (siehe Tabelle 16). Auch für den Her2/neu-Score ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Hier waren 36,4% der Tumorpräparate schwach gefärbt. In beiden Bewertungssystemen fielen weder mäßige noch starke Positivitäten auf.

**Tabelle 16:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR3 bei den untersuchten Adenokarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	18	81,8	<b>0</b>	14	63,6
<b>1</b>	4	18,2	<b>1</b>	8	36,4
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	0	0,0
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

## SSTR4

Bei der Auswertung der SSTR4-Positivitäten fielen zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score einige Unterschiede auf: Nur 22,7% der Präparate zeigten

nach der IRS-Klassifikation eine Immunreaktion, wohingegen bei 54,5% der Adenokarzinome nach dem Her2/neu-Score eine Färbung vorhanden war (siehe Tabelle 17). Nach der IRS-Klassifikation wurden alle gefärbten Tumore als schwach bewertet (22,7% der Fälle). Dem Her2/neu-Score zufolge konnte lediglich ein Präparat als mäßig positiv eingeordnet werden (4,5% der Tumore). Starke Positivitäten fanden sich nicht.

**Tabelle 17:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR4 bei den untersuchten Adenokarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	17	77,3	<b>0</b>	10	45,5
<b>1</b>	5	22,7	<b>1</b>	11	50,0
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	1	4,5
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

## SSTR5

95,5% der Adenokarzinome zeigten in beiden Bewertungssystemen eine Positivität für den SSTR5 (siehe Tabelle 18). Nach der IRS-Klassifikation wiesen 50% der Tumore eine mäßige SSTR5-Expression auf. Die restlichen 45,5% der Tumorpräparate, die eine SSTR5-Expression aufwiesen, wurden mit einem Score von 1 bewertet. Hierzu unterschied sich die Bewertung mittels Her2/neu-Score, nach der immerhin 2 Präparate mit einem Score von 3 bewertet wurden (9,1% der Fälle). Der größte Anteil der Adenokarzinome wurde mittels Her2/neu-Score als schwach gefärbt (45,5% der Tumore) beurteilt. Die verbliebenen 40,9% der positiven Präparate zeigten eine mäßige Immunreaktion. Wie in Tabelle 13 bereits gezeigt wurde, wies der SSTR5, verglichen mit den anderen Rezeptortypen, in Bezug auf die Färbeintensität den höchsten Mittelwert auf.

**Tabelle 18:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR5 bei den untersuchten Adenokarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	1	4,5	<b>0</b>	1	4,5
<b>1</b>	10	45,5	<b>1</b>	10	45,5
<b>2</b>	11	50,0	<b>2</b>	9	40,9
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	2	9,1

## CXCR4

Alle Adenokarzinome waren CXCR4-positiv. Der Großteil der Tumorpräparate war jedoch sowohl nach der IRS-Klassifikation (72,2%), als auch nach dem Her2/neu-Score (54,9%) nur schwach angefärbt (siehe Tabelle 19). Nach der IRS-Klassifikation war kein einziges Tumorpräparat stark positiv. Die restlichen 27,3% der gefärbten Präparate wiesen einen Score von 2 auf. Nach dem Her2/neu-Score wurde ein Präparat als stark gefärbt bewertet (4,5% der Fälle). Für 40,9% der Adenokarzinome ergab sich nach dem Her2/neu-Score eine mäßige Immunreaktion.

**Tabelle 19:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den CXCR4 bei den untersuchten Adenokarzinomen

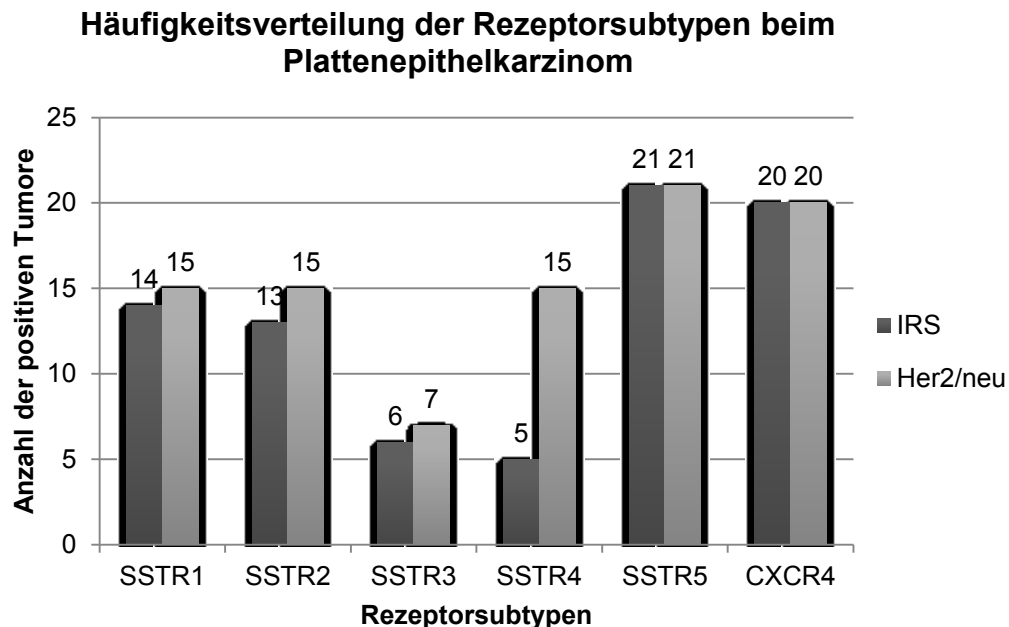
IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	0	0,0	<b>0</b>	0	0,0
<b>1</b>	16	72,7	<b>1</b>	12	54,5
<b>2</b>	6	27,3	<b>2</b>	9	40,9
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	1	4,5

### 5.3.5.2 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Plattenepithelkarzinomen

#### *Häufigkeitsverteilung*

Die Plattenepithelkarzinompräparate von allen 21 Patienten wurden gefärbt und auf das Auftreten der sechs Rezeptorsubtypen hin untersucht. Dabei ergab sich die in Abbildung 28 dargestellte Häufigkeitsverteilung. Erneut traten die Rezeptoren SSTR5 und CXCR4 am häufigsten und der SSTR3 am seltensten auf. Im Vergleich zu den Adenokarzinomen fand sich bei den Plattenepithelkarzinomen jedoch nicht der CXCR4 am häufigsten, sondern der SSTR5, der in allen Fällen positiv war. Der CXCR4 konnte bei 95,24% der Präparate nachgewiesen werden (siehe Tabelle 20). Beim Vergleich zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score konnten bei den Plattenepithelkarzinomen für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR5 und CXCR4 in etwa die gleichen Häufigkeiten ermittelt werden. Die größten Unterschiede zwischen den beiden Bewertungssystemen zeigten sich erneut beim SSTR4, wobei sich hier nach dem Her2/neu-Score deutlich höhere Werte ergaben als nach der IRS-Klassifikation. Demnach ließ sich bei den Plattenepithelkarzinomen nach der IRS-Klassifikation folgende Reihenfolge in der Häufigkeit des Auftretens der Rezeptorsubtypen feststellen:

SSTR5 > CXCR4 > SSTR1 > SSTR2 > SSTR3 > SSTR4. Bei der Betrachtung der Häufigkeiten nach dem Her2/neu-Score ergab sich für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2 und SSTR4 die gleiche Anzahl an Positivitäten (SSTR5 > CXCR4 > SSTR1 = SSTR2 = SSTR4 > SSTR3).



**Abbildung 28:** Häufigkeitsverteilung der Rezeptorsubtypen bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

#### *Stärke der Rezeptorpositivität*

Bei der Betrachtung der Intensität der Immunreaktion bei den Plattenepithelkarzinomen (Tabelle 20) zeigte sich, dass für die Rezeptoren SSTR1, SSTR3 und SSTR4 sowohl nach der IRS-Klassifikation als auch nach dem Her2/neu-Score keine starke Färbung zu verzeichnen war. Beim SSTR2, SSTR5 und CXCR4 fand sich nur bei der Bewertung nach dem Her2/neu-Score die stärkste Intensität. Beim Vergleich der Mittelwerte der einzelnen Rezeptoren ergab sich nach der IRS-Klassifikation folgende Reihenfolge für die Färbeintensität: SSTR5 > CXCR4 > SSTR1 > SSTR2 > SSTR3 > SSTR4. Demnach zeigte der SSTR5 die höchste und der SSTR4 die niedrigste Färbeintensität. Nach der IRS-Klassifikation wies kein einziges Plattenepithelkarzinompräparat eine starke Färbung auf, was daran erkennbar ist, dass der maximale Punktwert von 3 in Tabelle 20 bei der IRS-Klassifikation nicht vergeben wurde. Eine veränderte Reihenfolge ergab die Betrachtung der Färbeintensität nach dem Her2/neu-Score, da es zwischen den beiden Bewertungssystemen besonders beim SSTR4 stärkere Abweichungen gab (SSTR4: IRS-Klassifikation: 0,24, Her2/neu-Score: 0,81). Demnach würde die Abfolge der

Expressionsintensitäten nach dem Her2/neu-Score eine andere Reihenfolge aufzeigen:  
 $CXCR4 > SSTR5 > SSTR2 > SSTR1 = SSTR4 > SSTR3$ .

**Tabelle 20:** Anzahl der positiven Fälle und Intensitäten der Immunfärbungen für die verschiedenen Rezeptorsubtypen nach der IRS-Klassifikation (IRS) und dem Her2/neu-Score (Her2) für die untersuchten Plattenepithelkarzinome

	<b>SSTR1</b>		<b>SSTR2</b>		<b>SSTR3</b>		<b>SSTR4</b>		<b>SSTR5</b>		<b>CXCR4</b>	
	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2
<b>Punktezahl</b>												
Minimum	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Maximum	2	2	2	3	1	2	1	2	2	3	2	3
Mittelwert	0,71	0,81	0,67	0,9	0,29	0,38	0,24	0,81	1,38	1,48	1,19	1,71
<b>Positive Fälle</b>												
Anzahl	14	15	13	15	6	7	5	15	21	21	20	20
Prozent	66,67	68,18	59,09	68,18	27,27	31,81	22,72	68,18	100,00	100,00	95,24	95,24

### SSTR1

Etwa zwei Drittel aller Plattenepithelkarzinompräparate zeigten in Bezug auf den SSTR1 eine positive Immunreaktion (IRS-Klassifikation: 66,67% der Tumore, Her2/neu-Score: 68,18% der Fälle). Nach beiden Bewertungsmaßstäben war der größte Anteil der Plattenepithelkarzinome mit jeweils 61,9% schwach gefärbt (siehe Tabelle 21). Ein Drittel der Fälle wurde nach der IRS-Klassifikation und 28,6% der Tumore nach dem Her2/neu-Score mit einem Score von 0 bewertet. Diese Präparate zeigten also keinerlei Färbung. In beiden Bewertungssystemen ergaben sich nur wenige Präparate mit mäßiger Immunreaktion (IRS-Klassifikation: 4,8% der Tumore, Her2/neu-Score: 9,5% der Fälle). Sowohl nach der IRS-Klassifikation als auch nach dem Her2/neu-Score konnten keine stark gefärbten Tumorpräparate gefunden werden.

**Tabelle 21:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR1 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

<b>IRS-Klassifikation</b>			<b>Her2/neu-Score</b>		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	7	33,3	<b>0</b>	6	28,6
<b>1</b>	13	61,9	<b>1</b>	13	61,9
<b>2</b>	1	4,8	<b>2</b>	2	9,5
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

## SSTR2

Bei der Auswertung mit Hilfe der IRS-Klassifikation konnte bei 13 der 21 Präparate eine Immunreaktion nachgewiesen werden. Demnach waren 38,1% der Tumorproben hinsichtlich der SSTR2-Expression negativ. Von den gefärbten Plattenepithelkarzinomen zeigten nach der IRS-Klassifikation 92,3% eine schwache Färbung (siehe Tabelle 22). Beim Her2/neu-Score war der größte Anteil der Tumore mit 57,1% der Fälle schwach positiv. Weiterhin wurden hier zwei Präparate als mäßig angefärbt eingestuft (9,5% der Fälle). Im Gegensatz zur IRS-Klassifikation wurde hier ein Präparat sogar als stark positiv bewertet (4,8% der Tumore).

**Tabelle 22:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR2 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	8	38,1	<b>0</b>	6	28,6
<b>1</b>	12	57,1	<b>1</b>	12	57,1
<b>2</b>	1	4,8	<b>2</b>	2	9,5
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	1	4,8

## SSTR3

Nach der IRS-Klassifikation war der SSTR3 bei den Plattenepithelkarzinomen (wie auch schon bei den Adenokarzinomen) der Rezeptor mit den wenigsten Positivitäten. 6 der 21 Präparate wiesen eine SSTR3-Expression auf, wobei sich für alle lediglich eine schwache Immunreaktion ergab (siehe Tabelle 23). 71,4% der Tumore waren SSTR3-negativ. Dem Her2/neu-Score zufolge waren 66,7% der Tumorpräparate nicht angefärbt. Weitere 28,6% zeigten eine schwache und 4,8% eine mäßige Immunreaktion. In beiden Bewertungssystemen wurde keine starke Färbung beobachtet.

**Tabelle 23:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR3 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	15	71,4	<b>0</b>	14	66,7
<b>1</b>	6	28,6	<b>1</b>	6	28,6
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	1	4,8
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

**SSTR4**

Wie in Abbildung 28 zu sehen ist, gab es in Bezug auf die Häufigkeiten der SSTR4-Expression zwischen den beiden Bewertungssystemen größere Abweichungen (IRS-Klassifikation: 5 positive Fälle, Her2/neu-Score: 15 positive Fälle). Doch nicht nur in der Häufigkeit, sondern auch in der Färbintensität fielen Unterschiede auf (siehe Tabelle 24). Nach der IRS-Klassifikation wurde bei 5 Präparaten eine SSTR4-Expression beobachtet (23,8% der Tumore), wobei alle Immunreaktionen als schwach bewertet wurden. Beim Her2/neu-Score zeigten 61,9% der Plattenepithelkarzinome eine schwache und weitere 9,5% der Tumore eine mäßige Färbereaktion. Bei beiden Bewertungssystemen fand sich kein Präparat mit einer starken SSTR4-Expression.

**Tabelle 24:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR4 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	16	76,2	<b>0</b>	6	28,6
<b>1</b>	5	23,8	<b>1</b>	13	61,9
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	2	9,5
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

**SSTR5**

Alle 21 Plattenepithelkarzinompräparate wiesen eine Positivität für den SSTR5 auf (siehe Tabelle 25). Bei der IRS-Klassifikation zeigte sich keine starke Färbung, jedoch ergaben sich 4,8% stark gefärbte Präparate nach dem Her2/neu-Score. Der IRS-Klassifikation zufolge waren 61,9% der Präparate schwach positiv und 38,1% der Tumore wiesen eine mäßige Immunreaktion auf. Nach dem Her2/neu-Score wurden 57,1% der Plattenepithelkarzinome als schwach und 38,1% als mäßig positiv bewertet.

**Tabelle 25:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR5 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0,0
<b>1</b>	13	61,9	<b>1</b>	12	57,1
<b>2</b>	8	38,1	<b>2</b>	8	38,1
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	1	4,8



### CXCR4

95,24% aller Tumorpräparate waren sowohl in der IRS-Klassifikation als auch im Her2/neu-Score CXCR4-positiv (siehe Tabelle 26). Stark gefärbte Präparate konnten hierbei lediglich nach dem Her2/neu-Score gefunden werden (9,5% der Tumore). Weitere 28,6% der Präparate wiesen eine schwache und 57,1% der Tumore eine mäßige Immunreaktion auf. Nach der IRS-Klassifikation lag der Anteil der mäßig gefärbten Tumorpräparate mit 23,8% deutlich niedriger als beim Her2/neu-Score. Die restlichen 71,4% der Plattenepithelkarzinome wurden nach der IRS-Klassifikation mit einem Score von 1 klassifiziert, was einer schwachen Färbung entspricht.

**Tabelle 26:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den CXCR4 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	1	4,8	<b>0</b>	1	4,8
<b>1</b>	15	71,4	<b>1</b>	6	28,6
<b>2</b>	5	23,8	<b>2</b>	12	57,1
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	2	9,5

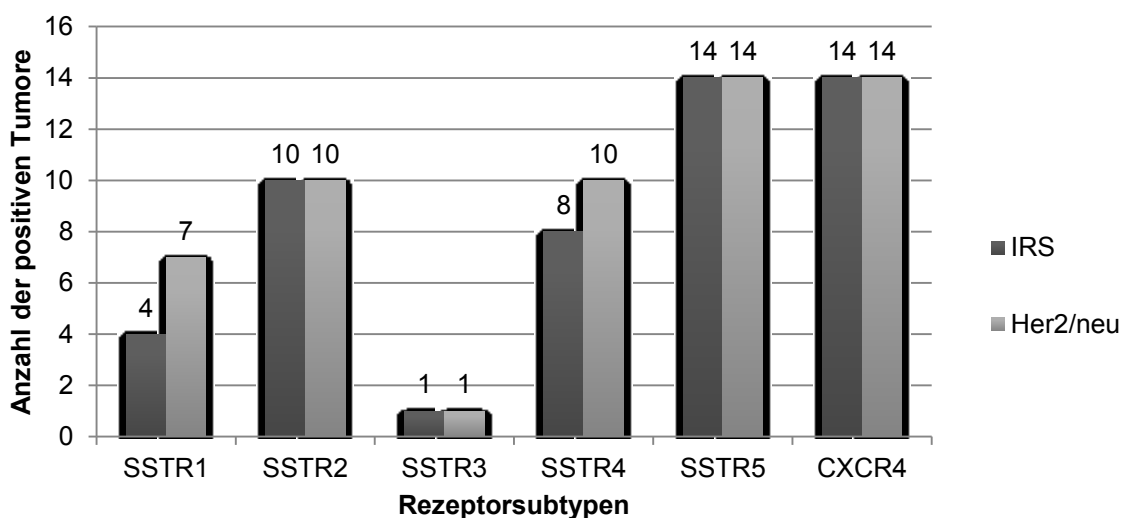
#### 5.3.5.3 Häufigkeitsverteilungen und Stärke der Rezeptorpositivitäten bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

##### *Häufigkeitsverteilung*

Alle Tumorproben der 14 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom wurden gefärbt und auf die sechs Rezeptorsubtypen hin untersucht. Die Anzahl der Positivitäten ist in Abbildung 29 graphisch dargestellt. Wie bei den anderen Entitäten waren auch hier die Rezeptoren SSTR5 und CXCR4 am häufigsten vertreten. Auch bei dieser Tumorentität war der SSTR3 am seltensten positiv. Nach der IRS-Klassifikation ergab sich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen bezüglich der Häufigkeit der Positivitäten folgende Reihenfolge der Rezeptoren: SSTR5 = CXCR4 > SSTR2 > SSTR4 > SSTR1 > SSTR3. Der SSTR2 zeigte bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ein regelmäßigeres Auftreten als der SSTR1. Hierbei unterschied sich diese Entität von den beiden anderen, bei welchen mehr Positivitäten für den SSTR1 im Vergleich zum SSTR2 verzeichnet werden konnten. Bei der Gegenüberstellung der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score zeigte sich auch für die Kleinzelligen Bronchialkarzinome, dass beide Bewertungssysteme vor allem bei den

Rezeptoren SSTR2, SSTR5 und CXCR4 übereinstimmten. Die größten Abweichungen zwischen den beiden Scores fanden sich beim SSTR1 (IRS-Klassifikation: 4 positive Fälle, Her2/neu-Score: 7 positive Präparate). Beim SSTR4 zeigte sich bei dieser Entität eine bessere Übereinstimmung zwischen den beiden Bewertungssystemen (IRS-Klassifikation: 8 positive Tumore, Her2/neu-Score: 10 gefärbte Präparate).

### Häufigkeitsverteilung der Rezeptorsubtypen beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom



**Abbildung 29:** Häufigkeitsverteilung der Rezeptorsubtypen bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

Von den 14 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom zeigten alle eine Positivität für den SSTR5 und den CXCR4. Bei 71,43% der Präparate konnte weiterhin der SSTR2 angefärbt werden. Bei allen drei Rezeptoren gab es zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score keine Abweichungen (siehe Tabelle 27). Bei der Bewertung des SSTR1 fanden sich größere Unterschiede zwischen der IRS-Klassifikation (18,18% positive Tumore) und dem Her2/neu-Score (31,18% positive Fälle). Lediglich 7,14% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome zeigten zudem eine SSTR3-Positivität.

#### *Stärke der Rezeptorpositivität*

Um die Intensität der Immunreaktion der Rezeptoren bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen beurteilen zu können, wurde der Mittelwert der Scores berechnet. Erneut wurden alle Präparate mit einer Punktzahl von 0 bis 3 bewertet. Anschließend wurde die Summe der Punktzahlen gebildet und durch die Anzahl der Tumorpräparate geteilt. Demnach ergab sich für die IRS-Klassifikation folgende Reihenfolge für die

Mittelwerte der Rezeptorexpressionsintensitäten: CXCR4 = SSTR5 > SSTR2 > SSTR4 > SSTR1 > SSTR3. Der CXCR4 erzielte die höchste Färbeintensität, mit einem Mittelwert von 1,86 (IRS-Klassifikation) beziehungsweise 2,57 (Her2/neu-Score). Für den SSTR3 fand sich mit 0,07 (IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score) ein sehr niedriger Mittelwert. Zudem zeigten sich beim SSTR3 ausschließlich schwache Färbungen. Der SSTR2 wies mit 1,21 (IRS-Klassifikation) und 1,5 (Her2/neu-Score) Punkten die höchsten Mittelwerte im Vergleich zu den anderen Tumorentitäten auf. Bei der Auswertung mit Hilfe des Her2/neu-Scores ergab sich für den CXCR4 ein Mittelwert von 2,57. Dies ist der höchste Mittelwert für alle Rezeptoren in allen drei Tumorentitäten. Demnach fanden sich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen zum einen sehr viele CXCR4-positive Präparate und zum anderen wiesen diese auch sehr hohe Färbeintensitäten auf.

**Tabelle 27:** Anzahl der positiven Fälle und Intensitäten der Immunfärbungen für die verschiedenen Rezeptorsubtypen nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für die untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinome

	SSTR1		SSTR2		SSTR3		SSTR4		SSTR5		CXCR4	
	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2	IRS	Her2
<b>Punktezahl</b>												
Minimum	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2
Maximum	2	2	3	3	1	1	1	2	3	3	3	3
Mittelwert	0,36	0,64	1,21	1,5	0,07	0,07	0,57	0,79	1,86	1,93	1,86	2,57
<b>Positive Fälle</b>												
Anzahl	4	7	10	10	1	1	8	10	14	14	14	14
Prozent	18,18	31,81	71,43	71,43	7,14	7,14	36,36	71,43	100,00	100,00	100,00	100,00

## SSTR1

Nach der IRS-Klassifikation zeigten 28,5% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome eine SSTR1-Färbung (siehe Tabelle 28). Davon wiesen 75% eine schwache und 25% eine mäßige Positivität auf. Entsprechend dem Her2/neu-Score ergab sich für die Hälfte der Tumore eine SSTR1-Expression. Hier zeigten von den gefärbten Präparaten 71,4% eine schwache und 28,6% eine mäßige Immunreaktion. Eine starke Färbung konnte bei beiden Bewertungssystemen nicht gefunden werden.

**Tabelle 28:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR1 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	10	71,4	<b>0</b>	7	50,0
<b>1</b>	3	21,4	<b>1</b>	5	35,7
<b>2</b>	1	7,1	<b>2</b>	2	14,3
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

**SSTR2**

Sowohl die IRS-Klassifikation als auch der Her2/neu-Score ergaben einen Anteil von 71,4% SSTR2-positiven Präparaten (siehe Tabelle 29). Ebenso konnten in beiden Bewertungssystemen alle drei Färbeintensitäten gefunden werden. Bei der IRS-Klassifikation wurden 35,7% der Präparate mit einem Score von 1 bewertet, was einer schwachen Färbung entspricht. Weitere 21,4% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome wiesen nach der IRS-Klassifikation eine mäßige und 14,3% eine starke Immunreaktion für den SSTR2 auf. Nach dem Her2/neu-Score waren sogar 35,7% der Präparate stark positiv und 7,1% zeigten eine mäßige SSTR2-Färbung.

**Tabelle 29:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR2 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	4	28,6	<b>0</b>	4	28,6
<b>1</b>	5	35,7	<b>1</b>	4	28,6
<b>2</b>	3	21,4	<b>2</b>	1	7,1
<b>3</b>	2	14,3	<b>3</b>	5	35,7

**SSTR3**

Der SSTR3 konnte von allen untersuchten Rezeptoren bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen am seltensten gefunden werden. Nach beiden Bewertungssystemen zeigte jeweils nur einer der 14 Patienten eine schwache SSTR3-Positivität (siehe Tabelle 30). Es konnten weder mäßig noch stark gefärbte Tumorpräparate nachgewiesen werden.

**Tabelle 30:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR3 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	13	92,9	<b>0</b>	13	92,9
<b>1</b>	1	7,1	<b>1</b>	1	7,1
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	0	0,0
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

**SSTR4**

Nach der IRS-Klassifikation wiesen 57,1% der Tumorpräparate eine schwache SSTR4-Positivität auf (siehe Tabelle 31). Es konnten weder mäßige noch starke Immunreaktionen beobachtet werden. Dagegen erwiesen sich 71,4% der Tumore nach dem Her2/neu-Score als SSTR4-positiv. 7,1% der Präparate wurden sogar als mäßig gefärbt bewertet. Die restlichen 64,3% der Tumore galten nach diesem Score als schwach positiv. In beiden Bewertungssystemen fanden sich keine stark gefärbten Tumorpräparate.

**Tabelle 31:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR4 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	6	42,9	<b>0</b>	4	28,6
<b>1</b>	8	57,1	<b>1</b>	9	64,3
<b>2</b>	0	0,0	<b>2</b>	1	7,1
<b>3</b>	0	0,0	<b>3</b>	0	0,0

**SSTR5**

Alle 14 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom zeigten eine Positivität für den SSTR5, unabhängig davon, welches Bewertungssystem verwendet wurde. In der IRS-Klassifikation ergab sich für die meisten Tumorpräparate eine mäßige Färbung (57,1% der Fälle), gefolgt von den schwach positiven Tumorpräparaten mit 28,6% der Fälle. Nur 14,3% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome waren nach der IRS-Klassifikation stark gefärbt (siehe Tabelle 32). Nach dem Her2/neu-Score wurde jeder zweite Tumor als mäßig gefärbt bewertet. 28,6% der Präparate zeigten hier eine schwache und 21,4% der Tumore eine starke SSTR5-Positivität.

**Tabelle 32:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den SSTR5 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0,0
<b>1</b>	4	28,6	<b>1</b>	4	28,6
<b>2</b>	8	57,1	<b>2</b>	7	50,0
<b>3</b>	2	14,3	<b>3</b>	3	21,4

#### CXCR4

Alle 14 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom waren CXCR4-positiv. Mit beiden Bewertungssystemen ergaben sich hierbei sehr hohe Werte für die Intensität der Färbungen (siehe Tabelle 33). Nach der IRS-Klassifikation hatten vier Patienten eine schwache (28,6%), acht Patienten eine mäßige (57,1%) und zwei Patienten eine starke Rezeptorfärbung (14,3%). Demnach können 71,4% der Tumorpräparate als mäßig oder stark positiv bewertet werden. Ähnlich hohe Werte ergaben sich auch nach dem Her2/neu-Score. Hierbei wurden sogar 57,1% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome als stark positiv bewertet. Es konnten keine schwach gefärbten Präparate gefunden werden und für 31,3 % der Tumore ergab sich eine mäßige Expression. Beim Vergleich zwischen allen Tumorentitäten und allen Rezeptoren fanden sich hier die meisten positiven Präparate und die höchsten Färbeintensitäten.

**Tabelle 33:** Häufigkeitsverteilung der Intensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score für den CXCR4 bei den untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinomen

IRS-Klassifikation			Her2/neu-Score		
	Häufigkeiten (n)	Prozent		Häufigkeiten (n)	Prozent
<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0,0
<b>1</b>	4	28,6	<b>1</b>	0	0,0
<b>2</b>	8	57,1	<b>2</b>	6	42,9
<b>3</b>	2	14,3	<b>3</b>	8	57,1

#### 5.4 Korrelationen

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 21.0. Die statistische Überprüfung der Daten begann zunächst mit der Prüfung aller Variablen auf Normalverteilung durch den Kolmogorow-Smirnow-Anpassungstest. Normalverteilte Werte ergaben sich ausschließlich für das Erkrankungsalter.

#### 5.4.1 Korrelationen zwischen den Rezeptorexpressionsintensitäten innerhalb der verschiedenen Tumorentitäten

Im Weiteren folgte nun die Untersuchung, ob die vergebenen IRS- bzw. Her2/neu-Score-Werte bzw. die Werte der IRS-Klassifikation für die Intensität der Expression der einzelnen Rezeptorsubtypen miteinander korrelieren. Die Berechnung der Korrelationen erfolgte mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests, wobei in den folgenden Tabellen lediglich signifikante Zusammenhänge ( $p \leq 0,05$ ) oder Tendenzen ( $p \leq 0,1$ ) aufgeführt wurden.

##### *Adenokarzinom*

Bei den Adenokarzinomen fanden sich zwei verschiedene Rezeptorkombinationen mit einer signifikanten Korrelation in der Expressionsintensität (siehe Tabelle 34). Nach dem IRS-Score und der IRS-Klassifikation zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen der SSTR1- und der SSTR4-Expression. Bei der IRS-Klassifikation fand sich die stärkste Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von  $\tau = 0,53$ . Eine weitere signifikante Korrelation ergab sich zwischen der Expression des SSTR2 und des CXCR4. Allerdings handelte sich hier um einen inversen Zusammenhang, der ausschließlich für den Her2/neu-Score gefunden werden konnte.

**Tabelle 34:** Korrelationen zwischen den mit Hilfe der drei Bewertungssysteme IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score ermittelten Expressionsintensitäten der untersuchten Rezeptoren beim Adenokarzinom

	IRS-Score	IRS-Klassifikation	Her2/neu-Score
SSTR1 - SSTR4	$\tau = 0,4$ $p = 0,026$	$\tau = 0,53$ $p = 0,009$	-
SSTR2 - CXCR4	-	-	$\tau = - 0,466$ $p = 0,029$

##### *Plattenepithelkarzinom*

Bei den Plattenepithelkarzinomen ergaben sich drei verschiedene Rezeptorkombinationen, bei denen eine signifikante Korrelation zwischen den Expressionsintensitäten verzeichnet werden konnte (siehe Tabelle 35). Die höchsten Korrelationskoeffizienten fanden sich für die Rezeptoren SSTR2 und CXCR4 mit  $\tau$ -Werten bis 0,54. Ein inverser Zusammenhang für das Ausmaß der Färbung konnte

zwischen den Rezeptoren SSTR3 und SSTR4 gefunden werden. Weiterhin ließ sich nach dem IRS-Score eine signifikante Korrelation zwischen der Expressionsintensität des SSTR4 und des SSTR5 nachweisen. Eine entsprechende Tendenz zeigte sich auch nach dem Her2/neu-Score.

**Tabelle 35:** Korrelationen zwischen den mit Hilfe der drei Bewertungssysteme IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score ermittelten Expressionsintensitäten der untersuchten Rezeptoren beim Plattenepithelkarzinom

	IRS-Score	IRS-Klassifikation	Her2/neu-Score
SSTR2 - CXCR4	$\tau = 0,54$ $p = 0,005$	$\tau = 0,53$ $p = 0,013$	-
SSTR3 - SSTR4	$\tau = -0,41$ $p = 0,044$	-	$\tau = -0,46$ $p = 0,029$
SSTR4 - SSTR5	$\tau = 0,45$ $p = 0,024$	-	$\tau = 0,40$ $p = 0,061$

#### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

Für die Kleinzelligen Bronchialkarzinome ergaben sich fünf Rezeptorkombinationen, die einen signifikanten oder tendenziellen Zusammenhang zwischen der Expressionsstärke zweier Rezeptoren aufwiesen (siehe Tabelle 36). Die höchsten Korrelationskoeffizienten zeigten sich bei den Rezeptoren SSTR1 und SSTR5 sowie SSTR1 und CXCR4 mit einem  $\tau$ -Wert von 0,61 in der IRS-Klassifikation. Bei der Kombination der Rezeptoren SSTR1 und SSTR4 konnte nach dem IRS-Score lediglich eine Tendenz für einen Zusammenhang der Expressionsintensitäten gefunden werden ( $p = 0,056$ ). Ebenso zeigte sich eine Tendenz zwischen den Expressionsintensitäten der Rezeptoren SSTR5 und CXCR4 nach dem IRS-Score und dem Her2/neu-Score.



**Tabelle 36:** Korrelationen zwischen den mit Hilfe der drei Bewertungssysteme IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score ermittelten Expressionsintensitäten der untersuchten Rezeptoren beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom

	IRS-Score	IRS-Klassifikation	Her2/neu-Score
SSTR1 - SSTR2	-	-	$\tau = 0,50$ $p = 0,042$
SSTR1 - SSTR4	$\tau = 0,45$ $p = 0,056$	-	-
SSTR1 - SSTR5	$\tau = 0,47$ $p = 0,045$	$\tau = 0,61$ $p = 0,018$	-
SSTR1 - CXCR4	$\tau = 0,56$ $p = 0,013$	$\tau = 0,61$ $p = 0,018$	-
SSTR5 - CXCR4	$\tau = 0,44$ $p = 0,054$	$\tau = 0,57$ $p = 0,025$	$\tau = 0,50$ $p = 0,058$

Beim Vergleich aller drei Tumorentitäten fiel auf, dass es keine Rezeptorkombination gibt, die in allen drei Tumorarten und allen drei Bewertungssystemen eine signifikante Korrelation aufwies.

#### 5.4.2 Korrelationen zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score

Beim Vergleich der Scores untereinander wurde der IRS-Score zunächst in die IRS-Klassifikation umgewandelt. Erneut wurden die Korrelationen mit dem Kendall-Tau-b-Test berechnet. Dabei ergaben sich für alle Tumorentitäten zusammengekommen die in Tabelle 37 dargestellten Werte. Sehr starke Korrelationen zeigten sich für die Rezeptoren SSTR2 ( $\tau = 0,87$ ) und SSTR1 ( $\tau = 0,85$ ). Der geringste Zusammenhang fand sich beim SSTR4 und beim SSTR5. Insgesamt korrelierten jedoch beide Bewertungssysteme bei allen Rezeptoren sehr gut miteinander.

**Tabelle 37:** Korrelation zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score

	Korrelationskoeffizient $\tau$	Signifikanzniveau p
SSTR1	0,85	< 0,001
SSTR2	0,87	< 0,001
SSTR3	0,78	< 0,001
SSTR4	0,56	< 0,001
SSTR5	0,49	< 0,001
CXCR4	0,64	< 0,001

#### 5.4.3 Unterschiede in der Rezeptorexpression zwischen den Tumorentitäten

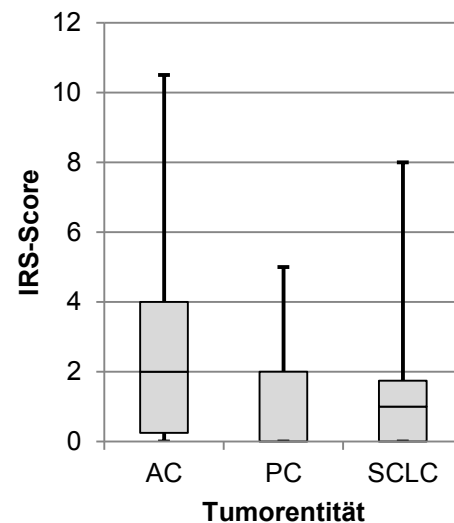
Im Folgenden wurde nun untersucht, inwiefern es in der Expressionsintensität der einzelnen Rezeptoren Unterschiede zwischen den drei verschiedenen Tumorentitäten gab. Diese Testung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests, bei welchem jeweils zwei der drei Tumorentitäten miteinander verglichen wurden. Weiterhin erfolgte die Darstellung der Expressionsstärken für die einzelnen Rezeptoren getrennt nach Tumorentitäten in Boxplots, bei denen aus Gründen der Übersichtlichkeit in der vorliegenden Arbeit nur die Werte des IRS-Scores dargestellt wurden.

##### *SSTR1*

Beim SSTR1 konnte lediglich ein signifikanter Unterschied in der Expressionsstärke zwischen den Adenokarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen (und auch nur in der IRS-Klassifikation) gezeigt werden (siehe Tabelle 38). Bei allen anderen Vergleichen waren keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen.

**Tabelle 38:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der SSTR1-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	186,000	0,256	-1,136
IRS-Klassifikation	188,000	0,262	-1,122
Her2/neu-Score	171,500	0,122	-1,546
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	109,000	0,179	-1,345
IRS-Klassifikation	96,000	0,053	-0,878
Her2/neu-Score	123,500	0,38	-1,932
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	101,000	0,078	-1,764
IRS-Klassifikation	90,000	<b>0,024</b>	-2,249
Her2/neu-Score	98,500	0,059	-1,889

**Abbildung 30:** Boxplot-Darstellung der SSTR1-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

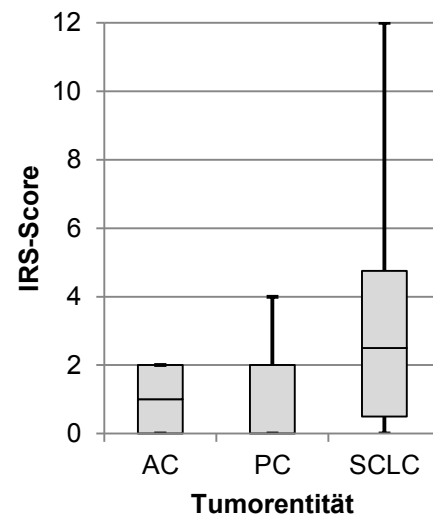
In der Abbildung 30 ist der IRS-Score für den SSTR1 in einem Boxplot dargestellt, geordnet nach den jeweiligen Tumorentitäten. Dabei wiesen die Adenokarzinome die höchsten Werte auf. Bei den Adenokarzinomen und bei den Plattenepithelkarzinomen ergab sich ein medianer Wert für die Expressionsintensitäten von 2. Die SSTR1-Expressionsintensität der Kleinzelligen Bronchialkarzinome lag unter denen der Adenokarzinome. Zudem zeigten die Kleinzelligen Bronchialkarzinome den kleinsten Interquartilsabstand, mit Werten von 0 bis 1,75. Die größte Spannweite der Färbeintensitäten ergab sich bei den Adenokarzinomen mit Werten von 0 bis 10,5.

### SSTR2

Beim SSTR2 zeigten sich signifikante Unterschiede beim Vergleich zwischen den Adenokarzinomen und den Plattenepithelkarzinomen sowohl nach dem IRS-Score als auch nach dem Her2/neu-Score (siehe Tabelle 39). Bei der IRS-Klassifikation ließ sich mit einem p-Wert von 0,08 immerhin ein tendenzieller Unterschied zwischen Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen aufdecken. Weiterhin ergaben sich für alle drei Bewertungssysteme signifikante Unterschiede zwischen den Adenokarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen.

**Tabelle 39:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der SSTR2-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	154,000	<b>0,048</b>	-1,979
IRS-Klassifikation	168,000	0,08	-1,749
Her2/neu-Score	156,000	<b>0,041</b>	-2,046
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	105,500	0,15	-1,441
IRS-Klassifikation	104,500	0,119	-1,558
Her2/neu-Score	112,500	0,215	-1,241
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	80,000	<b>0,016</b>	-2,515
IRS-Klassifikation	80,000	<b>0,016</b>	-2,639
Her2/neu-Score	84,000	<b>0,023</b>	-2,462



**Abbildung 31:** Boxplot-Darstellung der SSTR2-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

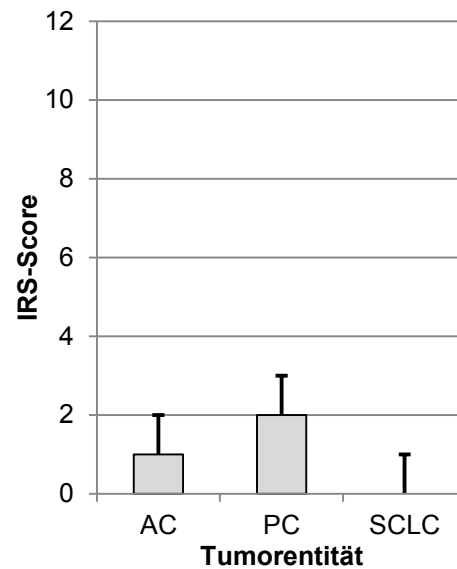
Bei den Adenokarzinomen zeigten die Werte des IRS-Scores die geringste Streubreite der Expressionsintensitäten. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen Werte zwischen 0 und 12 beim IRS-Score. Die Kleinzelligen Bronchialkarzinome wiesen zudem den größten Interquartilsabstand und den höchsten Median mit einem Wert von 2,5 auf (siehe Abbildung 31).

### SSTR3

Wie in Tabelle 40 zu sehen ist, ergab sich ausschließlich für den Vergleich zwischen Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen im IRS-Score ein signifikanter Unterschied nach dem Mann-Whitney-U-Test ( $p=0,025$ ). Weiterhin fand sich ein tendenzieller Unterschied in den Expressionsstärken zwischen Adenokarzinomen und Kleinzelligen Bronchialkarzinomen nach dem Her2/neu-Score ( $p=0,052$ ). In allen anderen Fällen konnten keine Signifikanzen verzeichnet werden.

**Tabelle 40:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der SSTR3-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	221,000	0,781	-0,278
IRS-Klassifikation	207,000	0,426	-0,88
Her2/neu-Score	228,000	0,93	-0,797
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	108,500	0,077	-1,77
IRS-Klassifikation	115,500	0,126	-1,53
Her2/neu-Score	108,000	0,072	-1,798
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	98,000	<b>0,025</b>	-2,24
IRS-Klassifikation	137,000	0,357	-0,921
Her2/neu-Score	109,000	0,052	-1,946



**Abbildung 32:** Boxplot-Darstellung der SSTR3-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

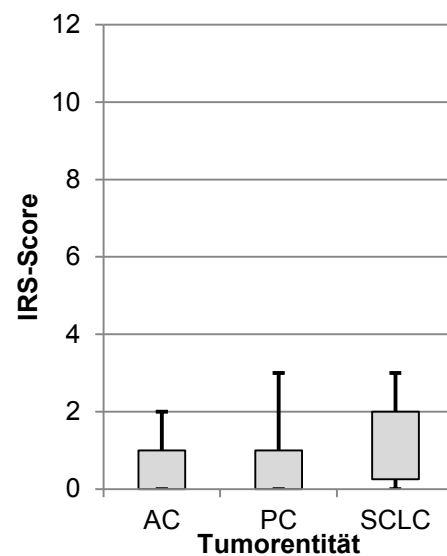
Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ergab sich die geringste Spannbreite der Werte mit einem IRS-Score von 0 bis maximal 1 (siehe Abbildung 32). Die höchste Spannbreite zeigten die Plattenepithelkarzinome mit einem maximalen IRS-Score von 3. Bei allen drei Tumorentitäten lag der Median bei 0. Beim SSTR3 zeigten sich insgesamt die niedrigsten Scoringwerte im Vergleich zu allen anderen Rezeptoren.

#### *SSTR4*

Beim SSTR4 ergaben sich nur in der IRS-Klassifikation signifikante Unterschiede zwischen den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ( $p = 0,049$ ) sowie zwischen den Adenokarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ( $p = 0,039$ ). Darüber hinaus konnten keine Signifikanzen gefunden werden (siehe Tabelle 41).

**Tabelle 41:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der SSTR4-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	215,500	0,687	-0,403
IRS-Klassifikation	228,500	0,934	-1,201
Her2/neu-Score	187,500	0,23	-0,83
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	111,000	0,205	-1,269
IRS-Klassifikation	98,000	<b>0,049</b>	-0,099
Her2/neu-Score	144,500	0,921	-1,971
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	110,000	0,135	-1,494
IRS-Klassifikation	101,000	<b>0,039</b>	-0,998
Her2/neu-Score	127,000	0,318	-2,066



**Abbildung 33:** Boxplot-Darstellung der SSTR4-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

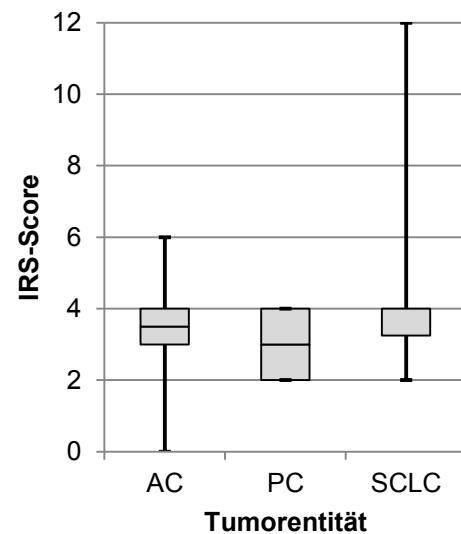
Bei allen drei Tumorentitäten fanden sich nur geringe IRS-Scores, was dafür spricht, dass die Tumore nur wenig SSTR4 exprimieren. Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome erreichten einen medianen IRS-Score von 1, wohingegen der Median der Kleinzelligen Bronchialkarzinome bei 2 lag (siehe Abbildung 33). Die größte Spannweite in den Färbeintensitäten ergaben sich bei den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen (Werte von 0 bis 3). Die Kleinzelligen Bronchialkarzinome wiesen den größten Interquartilsabstand auf (0 bis 2).

### SSTR5

Wie in Tabelle 42 zu sehen ist, ergab sich für den SSTR5 lediglich ein signifikanter Unterschied zwischen den Plattenepithelkarzinomen und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen im IRS-Score ( $p=0,018$ ) und in der IRS-Klassifikation ( $p=0,031$ ).

**Tabelle 42:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der SSTR5-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	202,000	0,454	-0,748
IRS-Klassifikation	210,000	0,704	-0,379
Her2/neu-Score	217,000	0,559	-0,585
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	80,500	<b>0,018</b>	-2,373
IRS-Klassifikation	90,000	<b>0,031</b>	-2,159
Her2/neu-Score	96,500	0,061	-1,872
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	104,000	0,083	-1,733
IRS-Klassifikation	108,000	0,094	-1,675
Her2/neu-Score	112,500	0,144	-1,46

**Abbildung 34:** Boxplot-Darstellung der SSTR5-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

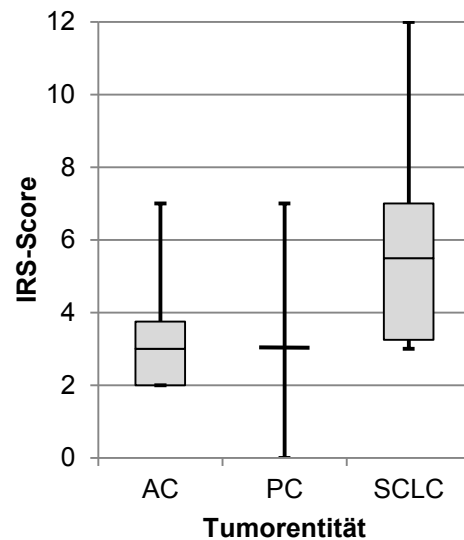
Die geringste Spannweite in der SSTR5-Färbeintensität fand sich bei den Plattenepithelkarzinomen, mit Werten von 2 bis 4 Punkten (siehe Abbildung 34). Die untersuchten Adenokarzinome zeigten mit Werten von 0 bis 6 in Bezug auf die SSTR4-Expression einen größeren Wertebereich als die Plattenepithelkarzinome. Der Interquartilsabstand der Expressionsintensitäten lag bei den Adenokarzinomen zwischen den Werten 3 und 4, was bedeutet, dass 50% aller gefundenen Färbeintensitäten auf diese Werte entfallen. Die Kleinzelligen Bronchialkarzinome wiesen die größte Spannweite in der Färbeintensität auf (Werte von 2 bis 12) und hatten dennoch den kleinsten Interquartilsabstand, mit Werten von 3,25 bis 4.

#### CXCR4

Bei der CXCR4-Expression (siehe Tabelle 43) fiel auf, dass beim Vergleich zwischen Adenokarzinomen und auch Plattenepithelkarzinomen auf der einen Seite und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen auf der anderen Seite in allen drei Bewertungssystemen signifikante Unterschiede erzielt wurden. Hierbei zeigten sich im Vergleich zu den anderen Rezeptoren die höchsten Signifikanzniveaus. Beim Vergleich zwischen Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der CXCR4-Expression festgestellt werden.

**Tabelle 43:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich der Intensität der CXCR4-Expression

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
IRS-Score	196,500	0,363	-0,909
IRS-Klassifikation	215,000	0,618	-0,498
Her2/neu-Score	185,000	0,214	-1,242
<b>PC versus SCLC</b>			
IRS-Score	58,000	<b>0,001</b>	-3,234
IRS-Klassifikation	70,000	<b>0,004</b>	-2,918
Her2/neu-Score	56,000	<b>0,001</b>	-3,351
<b>AC versus SCLC</b>			
IRS-Score	52,500	<b>0,001</b>	-3,385
IRS-Klassifikation	80,000	<b>0,006</b>	-2,736
Her2/neu-Score	37,000	<b>&lt;0,001</b>	-4,057

**Abbildung 35:** Boxplot-Darstellung der CXCR4-Expressionsintensitäten nach dem IRS-Score. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Die CXCR4-Expressionsintensität erreichte bei den Adenokarzinomen Werte zwischen 2 und 7, wobei 50% der Werte zwischen 2 und 3,75 lagen (siehe Abbildung 35). Bei den Adenokarzinomen und bei den Plattenepithelkarzinomen war der Maximalwert der Färbeintensität 7. Im Gegensatz zu den Adenokarzinomen zeigten die Plattenepithelkarzinome eine größere Spannweite der Intensitätswerte (0 bis 7). Bei den Plattenepithelkarzinomen wiesen 50% der Werte eine Färbeintensität von 3 auf. Die höchste Spannweite in der CXCR4-Färbeintensität ergab sich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen mit Werten von 3 bis 12. Weiterhin zeigten die Kleinzelligen Bronchialkarzinome den größten Interquartilsabstand (3,25 bis 7) und den höchsten Median mit einem Wert von 5,5.

#### 5.4.4 Ki-67-Auswertung

##### *Ki-67-Index in den drei Tumorentitäten*

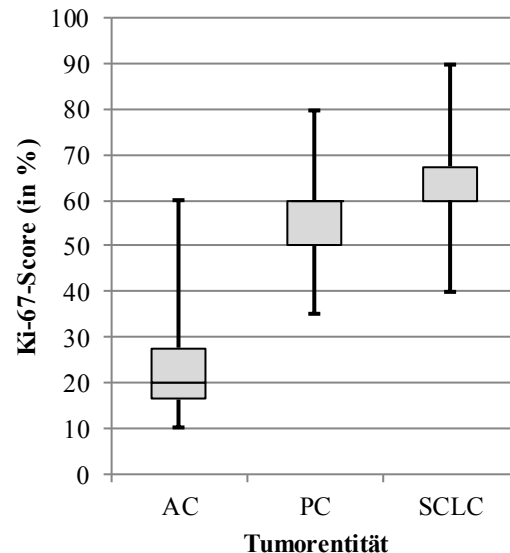
Die Auswertung des Ki-67-Scores erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test, dessen Ergebnisse in Tabelle 44 dargestellt sind. Demnach ergaben sich beim Vergleich zwischen Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinom sowie zwischen Adenokarzinomen und Kleinzelligen Bronchialkarzinomen hoch signifikante Unterschiede. Beim Vergleich zwischen Plattenepithelkarzinomen und Kleinzelligen



Bronchialkarzinomen konnten dagegen keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

**Tabelle 44:** Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorentitäten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich des Ki-67-Scores

	U	p	Z
<b>AC versus PC</b>			
Ki-67-Score	21,000	<b>0,001</b>	-5,175
<b>PC versus SCLC</b>			
Ki-67-Score	122,000	0,369	-0,898
<b>AC versus SCLC</b>			
Ki-67-Score	9,000	<b>0,001</b>	-4,800



**Abbildung 36:** Boxplot-Darstellung der Ki-67-Scores in den drei Tumorentitäten. AC: Adenokarzinom, PC: Plattenepithelkarzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Für die Adenokarzinome ergaben sich im Vergleich zu den beiden anderen Tumorentitäten beim Ki-67-Score die niedrigsten Werte (siehe Abbildung 36). Es zeigte sich hierbei eine Spannweite der Werte zwischen 10% und 60%. Der Median der Adenokarzinome lag mit 20% deutlich unter dem Median der beiden anderen Tumorentitäten mit jeweils 60%. Die Plattenepithelkarzinome zeigten eine geringfügig kleinere Spannweite der Ki-67-Werte als die Kleinzelligen Bronchialkarzinome (Plattenepithelkarzinome: 35 – 80%, Kleinzellige Bronchialkarzinome: 40 – 90%). Die Kleinzelligen Bronchialkarzinome hatten den geringsten Interquartilsabstand von 60 bis 67,5%. Demnach lagen 50% aller Ki-67-Werte in diesem Bereich.

#### *Korrelation zwischen Ki-67-Index und Expressionsintensitäten der Rezeptoren*

Mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests wurde überprüft, ob es bei der vorliegenden Untersuchung einen Zusammenhang zwischen der Expression des Ki-67 und der Expressionsintensität der untersuchten Rezeptoren bei allen drei Tumorentitäten zusammengekommen gab (siehe Tabelle 45). Zur Analyse der Zusammenhänge wurden

im Folgenden aus Gründen der Übersichtlichkeit die Bewertungssysteme IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score verwendet. Hierbei fand sich nach der IRS-Klassifikation ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem SSTR2 und dem Ki-67-Index ( $\tau = 0,371$ ,  $p = 0,001$ ). Eine Tendenz ergab sich nach der IRS-Klassifikation außerdem zwischen dem CXCR4 und dem Ki-67 ( $\tau = 0,193$ ,  $p = 0,091$ ). Signifikante Korrelationen zeigten sich nach dem Her2/neu-Score zwischen der SSTR2-Expressionsintensität und dem Ki-67, sowie zwischen der Stärke der CXCR4-Färbung und dem Ki-67-Wert. Zusätzlich fand sich noch ein inverser Zusammenhang zwischen dem SSTR1 und dem Ki-67-Index.

**Tabelle 45:** Korrelationen zwischen dem Ki-67-Index und den Rezeptorexpressionsintensitäten nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests.

	IRS-Klassifikation		Her2/neu-Score	
	Koeffizient ( $\tau$ )	p-Wert	Koeffizient ( $\tau$ )	p-Wert
<b>SSTR1</b>	-		-0,214	0,050
<b>SSTR2</b>	0,374	0,001	0,317	0,004
<b>CXCR4</b>	0,193	0,091	0,353	0,001

Bei der alleinigen Betrachtung der einzelnen Tumorentitäten ergaben sich abweichende Ergebnisse. Bei den **Adenokarzinomen** fand sich bei beiden Bewertungssystemen nur eine signifikante inverse Korrelation zwischen der Ki-67-Expression und der Intensität der SSTR1-Färbung (IRS-Klassifikation:  $\tau = -0,390$ ,  $p = 0,033$ ; Her2/neu-Score:  $\tau = -0,399$ ,  $p = 0,028$ ).

Bei den **Plattenepithelkarzinomen** zeigte sich keine Übereinstimmung zwischen der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score (siehe Tabelle 46). Es ergab sich nach der IRS-Klassifikation eine signifikante Korrelation zwischen der Ki-67- und der SSTR1-Expression und außerdem eine Tendenz zwischen dem Ki-67-Index und der SSTR2-Positivität. Nach dem Her2/neu-Score fanden sich zwei signifikante Korrelationen (Ki-67 – SSTR5, Ki-67 – CXCR4) und ein tendenzieller Zusammenhang zwischen dem Ki-67-Index und der SSTR3-Expression.

**Tabelle 46:** Korrelationen zwischen der Ki-67-Expression und den Expressionsintensitäten der untersuchten Rezeptoren bei den Plattenepithelkarzinomen nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests.

	IRS-Klassifikation		Her2/neu-Score	
	Koeffizient ( $\tau$ )	p-Wert	Koeffizient ( $\tau$ )	p-Wert
<b>SSTR1</b>	0,411	0,037	-	
<b>SSTR2</b>	0,352	0,073	-	
<b>SSTR3</b>	-		-0,372	0,059
<b>SSTR5</b>	-		0,467	0,018
<b>CXCR4</b>	-		0,424	0,027

Für die **Kleinzelligen Bronchialkarzinome** ließ sich keine einzige signifikante Korrelation zwischen der Ki-67-Expression und der Expression eines der untersuchten Rezeptoren finden.

#### 5.4.5 Score versus Erkrankungsalter

Nach dem Kendall-Tau-b-Test ergab sich für alle Tumorentitäten weder für die IRS-Klassifikation noch für den IRS-Score oder den Her2/neu-Score eine Korrelation zwischen Score und Erkrankungsalter ( $0,012 < \tau_b < 0,130$ ). Ebenso zeigten alle diese Korrelationen keine Signifikanzen (IRS-Score:  $0,270 < p < 0,903$ , IRS-Klassifikation:  $0,238 < p < 0,923$ , Her2/neu-Score:  $0,239 < p < 0,782$ ). Auch bei der einzelnen Betrachtung der drei Tumorentitäten ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den verschiedenen Scores und dem Erkrankungsalter.

#### 5.4.6 Score versus Grading

Um eine mögliche Korrelation zwischen den verschiedenen Scores (IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score) und dem Tumorgrading aller Tumore zusammen genommen zu untersuchen, wurde erneut der Kendall-Tau-b-Test verwendet. In Tabelle 47 sind lediglich die Rezeptoren aufgeführt, für die eine signifikante Korrelation zwischen Bewertungsmaßstab und Grading verzeichnet werden konnte. Hierbei fiel auf, dass sich bei der Betrachtung aller drei Tumorentitäten gemeinsam für alle drei Bewertungssysteme ausschließlich Korrelationen mit der Expression der Rezeptoren SSTR1 und SSTR2 ergaben. Beim SSTR1 zeigte sich dabei ein inverser Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Rezeptorexpression und dem Grading.

**Tabelle 47:** Korrelationen zwischen den Scores und dem Grading für die Rezeptoren SSTR1 und SSTR2

	SSTR1	SSTR2
IRS-Score	$\tau = -0,30$ $p = 0,019$	$\tau = 0,33$ $p = 0,005$
IRS-Klassifikation	$\tau = -0,32$ $p = 0,008$	$\tau = 0,27$ $p = 0,030$
Her2/neu-Score	$\tau = -0,25$ $p = 0,036$	$\tau = 0,34$ $p = 0,005$

Weiterhin wurde die Untersuchung einer möglichen Korrelation zwischen Grading und den drei Bewertungsmaßstäben bei den einzelnen Tumorentitäten durchgeführt. Dabei ergab sich bei den Adenokarzinomen ein tendenzieller inverser Zusammenhang zwischen dem Grading und der CXCR4-Expression nach dem Her2/neu-Score (Adenokarzinom:  $\tau = -0,363$ ;  $p = 0,073$ ). Bei den Plattenepithelkarzinomen zeigte sich bei allen drei Bewertungssystemen ein Zusammenhang zwischen dem Grading und der SSTR2-Expression. Für den IRS-Score und die IRS-Klassifikation konnte hierbei ein signifikanter und für den Her2/neu-Score ein tendenzieller Zusammenhang nachgewiesen werden (siehe Tabelle 48). Da alle Kleinzelligen Bronchialkarzinome als G4 eingestuft werden, ist eine Korrelation zwischen Grading und den drei Scores bei dieser Entität nicht sinnvoll.

**Tabelle 48:** Korrelationen zwischen den Scores und dem Grading für den SSTR2 bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen

	SSTR2
IRS-Score	$\tau = 0,489$ $p = 0,012$
IRS-Klassifikation	$\tau = 0,547$ $p = 0,007$
Her2/neu-Score	$\tau = 0,361$ $p = 0,084$

#### 5.4.7 Korrelation zwischen Ki-67-Index und Überleben

Da der Ki-67 ein Proliferationsindex ist und somit durchaus als ein prognostischer Marker gesehen werden kann, sollte auch in der vorliegenden Arbeit überprüft werden, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Ki-67-Index und dem Überleben gibt. Leider konnte eine Korrelation mit Hilfe des Spearman-Test nicht bestätigt werden, da sich, sowohl für alle drei Entitäten gemeinsam betrachtet als auch für die einzelnen Entitäten, keine signifikanten Werte ergaben (siehe Tabelle 49). Nur bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ergab sich eine Tendenz für einen Zusammenhang zwischen dem Ki-67-Index und der Überlebenszeit der Patienten nach der Diagnosestellung.

**Tabelle 49:** Korrelationen zwischen dem Ki-67-Index und dem Überleben der Patienten nach Diagnosestellung in Monaten für die untersuchten Tumore mit Hilfe des Spearman-Tests.

	<b>Korrelation des Überlebens mit dem Ki-67-Index</b>	
	Koeffizient Rho	p-Wert
<b>Adenokarzinom</b>	-0,425	0,192
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	-0,115	0,721
<b>Kleinzelliges Bronchialkarzinom</b>	-0,585	0,075
<b>alle Tumorproben</b>	-0,255	0,153

Anschließend erfolgte die Einteilung der Ki-67-Werte in Anlehnung an die Arbeit von Tabata et al. (2014) in vier Ränge (siehe Tabelle 50), um danach einen möglichen Zusammenhang zwischen der Stärke der Ki-67-Expression und dem Überleben überprüfen zu können. Wie in Tabelle 50 zu sehen ist, fanden sich keine Fälle mit einem Ki-67-Wert <1% (entspricht Rang 0), 2 Tumore mit einem Ki-67-Wert zwischen 1 und 10% (entspricht Rang 1), 7 Proben mit einem Ki-67-Score zwischen 11% und 30% (entspricht Rang 2) und 24 Fälle mit einer Ki-67-Expression größer 30% (Rang 3).

**Tabelle 50:** Zuordnung der Ki-67-Werte, der Anzahl der Fälle und medianes Überleben in den einzelnen Rängen (nach Tabata et al., 2014)

<b>Rang</b>	<b>Ki-67 Wert in %</b>	<b>Anzahl der Fälle</b>	<b>medianes Überleben in Monaten</b>
0	<1	0	-
1	1-10	2	22
2	11-30	7	10
3	>30	24	15

Die Auswertung der Ränge bezüglich des medianen Überlebens ergab die längste Überlebensdauer für die Patienten mit einem niedrigen Ki-67-Wert in Rang 1 mit 22 Monaten. Die Patienten mit einem mittleren Ki-67 Wert (Rang 2) überlebten im Median nach der Diagnose noch weitere 10 Monate und Patienten mit einem hohen Ki-67-Wert  $>30\%$  lebten noch weitere 15 Monate nach der Diagnosestellung (siehe Tabelle 50).

Bei der getrennten Auswertung nach Tumorentitäten zeigten sich für die Plattenepithelkarzinome und die Kleinzelligen Bronchialkarzinome ausschließlich hohe Ki-67-Expressionsraten, entsprechend Rang 3 (siehe Tabelle 51). Das längste mediane Überleben fand sich bei den Adenokarzinomen mit den niedrigsten Ki-67-Werten. Die Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom zeigten trotz ähnlich hoher Ki-67 Werte wie bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ein längeres Überleben.

**Tabelle 51:** Medianes Überleben in Monaten in Abhängigkeit von Tumorentität und Ki-67-Rang, Ca: Karzinom, SCLC: Kleinzelliges Bronchialkarzinom

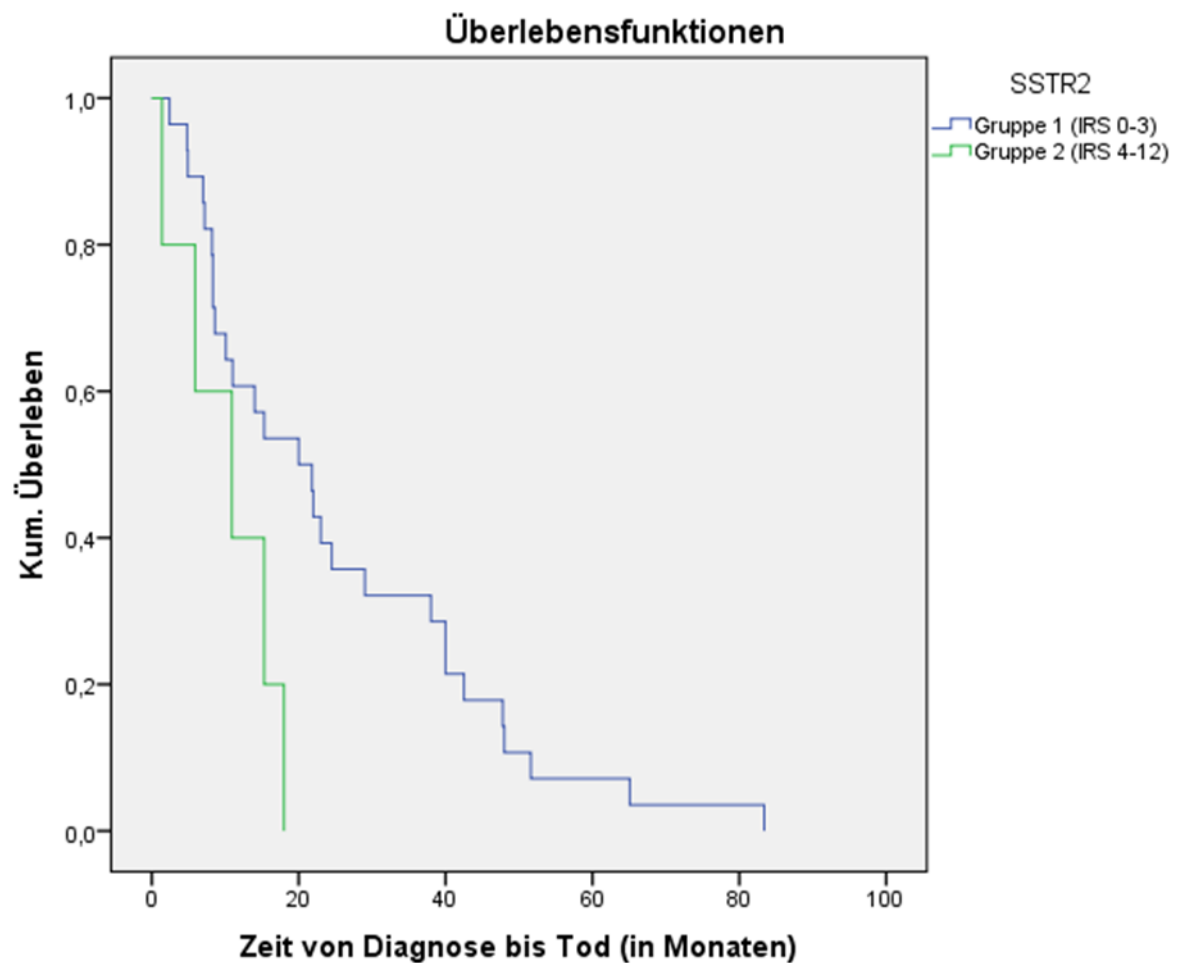
	Rang	medianes Überleben in Monaten
Adeno-Ca	1	22
	2	11
	3	7
Plattenepithel-Ca	3	18
SCLC	3	11

#### 5.4.8 Korrelation zwischen der Expressionsintensität der Somatostatinrezeptoren und des CXCR4 und dem Überleben

Zur Beantwortung der Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen der Expression der verschiedenen Rezeptoren und dem Überleben gibt, wurde der Spearman-Test angewandt. Dabei wurden die drei Tumorentitäten zunächst gemeinsam und schließlich einzeln untersucht. Es ließ sich für keinen der Rezeptoren sowohl nach dem IRS-Score als auch nach dem Her2/neu-Score ein statistisch signifikanter Einfluss auf das Überleben der Patienten nachweisen.

Nach dem Log-Rank-Test zeigte sich ausschließlich für den SSTR2 ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Rezeptorexpression und dem Überleben. Dazu wurden die Tumore entsprechend ihres IRS-Scores in zwei Gruppen aufgeteilt: Die Gruppe 1 umfasste dabei niedrig positive Tumore mit einem IRS-Wert von 0 bis 3 und die Gruppe 2 beinhaltete Tumore mit einem IRS-Wert  $\geq 4$ . Es ergab sich ein medianes Überleben von 20 Monaten für die Patienten in Gruppe 1 und von 11 Monaten für die Patienten,

welche der Gruppe 2 zugehörig waren. Die Überlebenskurven für beide Gruppen sind in Abbildung 37 dargestellt.



**Abbildung 37:** Kumulatives Überleben in Abhängigkeit von der SSTR2-Expression nach Einteilung der Patienten in eine Gruppe mit niedriger (IRS-Score 0 bis 3) und hoher SSTR2-Expression (IRS-Score 4 bis 12)

Für alle anderen Somatostatinrezeptorsubtypen und auch für den CXCR4 zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Rezeptorexpression und dem Überleben. Auch bei der Untersuchung der einzelnen Tumorentitäten ergaben sich nach dem Log-Rank-Test keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Überleben und der Rezeptorexpression.

## 6 Diskussion

### 6.1 Immunhistochemische Untersuchung der Tumorpräparate

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der drei verschiedenen Entitäten des Bronchialkarzinoms auf die Expression der Rezeptoren SSTR1 bis 5 sowie des CXCR4. Im Folgenden werden in Kapitel 6.1.1 zunächst die Ergebnisse für die immunhistochemische Färbung der Somatostatinrezeptoren diskutiert. Im Anschluss daran erfolgt die Beurteilung der Ergebnisse der CXCR4-Immunhistochemie.

#### 6.1.1 Häufigkeiten der Somatostatinrezeptorsubtyp-Expression

##### *Adenokarzinom*

Bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbung der Adenokarzinome ergab sich bei 95,45% der Tumore eine SSTR5-Positivität. Dieser Rezeptor war damit bei den Adenokarzinomen der am häufigsten anzutreffende Somatostatinrezeptor. Mit zwei von drei gefärbten Tumoren folgte der SSTR1 als zweithäufigster Rezeptor. Diese beiden Rezeptoren zeigten außerdem die höchsten Färbeintensitäten. Der SSTR3 wurde mit rund 20% positiven Präparaten beim Adenokarzinom selten vorgefunden. Der SSTR4 fiel dadurch auf, dass bei ihm als einziger Rezeptor deutlich abweichende Werte zwischen Her2/neu-Score (54,54% der Fälle) und IRS-Klassifikation (22,72% positive Tumore) auftraten.

Die Expression der verschiedenen Somatostatinrezeptorsubtypen beim Adenokarzinom der Lunge wurde bereits von einigen Forschungsgruppen untersucht (siehe Tabelle 52). Allerdings waren die Fallzahlen bei den meisten Arbeiten sehr gering.



**Tabelle 52:** Chronologische Auflistung der vorliegenden Literatur zur Expression der Somatostatinrezeptoren beim Adenokarzinom der Lunge. Angegeben ist die Anzahl der positiven Fälle bezogen auf die Gesamtzahl an Tumoren; n.u.: nicht untersucht; \*: beim untersuchten Material handelte es sich um NSCLC-Zelllinien

Autor	Fallzahl	Somatostatinrezeptorsubtyp				
		SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
Papotti et al. (2001)	1	n.u.	0/1	0/1	n.u.	1/1
Traub et al. (2001)	2	0/2	2/2	0/2	1/2	0/2
Treszl et al. (2009) *	4	4/4	4/4	3/4	4/4	3/4
Singh et al. (2011)	48	n.u.	14/48	n.u.	n.u.	n.u.
Lupp et al. (2013)	5	0/5	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.

Mit der Expression des **SSTR1** in Adenokarzinomen der Lunge beschäftigten sich bereits Traub et al. (2001), Treszl et al. (2009) und Lupp et al. (2013) (siehe Tabelle 52). Dabei fanden Traub et al. (2001) und Lupp et al. (2013) kein einziges positives Tumopräparat, was im Widerspruch steht zu den in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnissen. In den oben gezeigten Versuchen zeigte sich bei den Adenokarzinomen eine sehr hohe SSTR1-Positivität, wobei circa zwei Drittel der Fälle nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score diesen Rezeptor exprimierten. Diese Diskrepanz könnte möglicherweise auf der sehr geringen Fallzahl bei den Untersuchungen von Lupp et al. (2013) und Traub et al. (2001) beruhen. Treszl et al. (2009) fanden in allen vier untersuchten NSCLC-Zelllinien eine SSTR1-Positivität. Leider wurde hier aber nicht zwischen Adenokarzinom- und Plattenepithelkarzinomzelllinien unterschieden, wodurch der Vergleich mit den hier vorliegenden Daten nur eingeschränkt möglich ist.

Auch den **SSTR2** konnten Treszl et al. (2009) in allen ihren Zelllinien nachweisen. Diese Ergebnisse werden auch durch die Daten von Traub et al. (2001) bestätigt, bei welchen alle beiden untersuchten Tumorproben eine SSTR2-Expression zeigten. Singh et al. (2011) analysierten in ihrer Studie 48 Adenokarzinome auf ihre SSTR2-Expression und stellten dabei fest, dass sich für 70,8% der von ihnen untersuchten Tumore keine SSTR2-Expression ergab. Damit ähneln diese Ergebnisse denen der vorliegenden Arbeit. Hier waren 63,64% der Präparate ebenfalls SSTR2-negativ. Bei Papotti et al. (2001) wies das einzige von ihnen untersuchte Adenokarzinom keine SSTR2-Expression auf.

Eine **SSTR3**-Positivität zeigte sich in der Arbeit von Treszl et al. (2009) für drei der vier untersuchten Zelllinien. Papotti et al. (2001) und Traub et al. (2001) fanden allerdings kein einziges Präparat mit einer SSTR3-Expression. Auch in der hier vorgestellten Arbeit wurde der SSTR3 nur selten gefunden und war mit 18,18% positiven Fällen nach der IRS-Klassifikation der seltenste Somatostatinrezeptorsubtyp.

Treszl et al. (2009) fanden in allen vier Zelllinien eine **SSTR4**-Expression. Traub et al. (2001) konnten dagegen nur in einer ihrer zwei untersuchten Adenokarzinom-Proben eine Färbung des SSTR4 verzeichnen. Weitere Literaturdaten zu Untersuchungen mit größeren Fallzahlen ließen sich leider nicht finden. Die SSTR4-Expression in der vorliegenden Arbeit unterschied sich sehr zwischen der IRS-Klassifikation (22,7% positive Fälle) und dem Her2/neu-Score (54,5% gefärbte Tumorproben). Dies ist auf die schwierige immunhistochemische Auswertung dieser Rezeptorfärbung zurückzuführen, da der verwendete polyklonale Antikörper zu vielen unspezifischen Hintergrundfärbungen führt. Im Vorfeld der Untersuchung wurden verschiedene monoklonale SSTR4-Antikörper getestet, welche allerdings insgesamt noch schlechtere Ergebnisse lieferten, da sich unspezifische Hintergrund- und Zellkernfärbungen ergaben. Folglich wurde in der vorliegenden Arbeit mit dem polyklonalen Antikörper gearbeitet, da er noch die besten und spezifischsten Färbeergebnisse lieferte.

In Bezug auf den **SSTR5** konnten Papotti et al. (2001) in ihrem untersuchten Adenokarzinom eine Expression verzeichnen. Ebenso konnten auch Treszl et al. (2009) eine SSTR5-Expression in drei der vier untersuchten NSCLC-Zelllinien nachweisen. Dagegen fanden Traub et al. (2001) in den beiden von ihnen untersuchten Präparaten keine SSTR5-Positivität, was im Gegensatz zu den hier vorgestellten Ergebnissen steht, wo der SSTR5 in 95,5% der Fälle nachweisbar war. Die beobachtete Diskrepanz zwischen den Literaturangaben und den hier vorgestellten Ergebnissen ist mit der sehr geringen Fallzahl in der bereits veröffentlichten Literatur zu begründen.

Insgesamt ist die bisherige Datenlage bezüglich der Somatostatinrezeptorexpression beim Adenokarzinom eher ungenügend. Auch umfassen die bereits vorhandenen Untersuchungen viel zu geringe Fallzahlen. In der vorliegenden Arbeit wurde zusätzlich die Intensität der jeweiligen Rezeptorexpression analysiert. Hierzu lassen sich bisher noch keine Vergleichsdaten in der Literatur finden.

### *Plattenepithelkarzinom*

In der vorliegenden Untersuchung ergab sich für 95,24% der Plattenepithelkarzinome eine SSTR5-Positivität. Bei circa zwei Drittel der Tumore fanden sich nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score zudem eine SSTR1- und eine SSTR2-Expression. Der SSTR3 zeigte wie auch bei den Adenokarzinomen die niedrigste Expressionsrate mit einer Präsenz in etwa einem Drittel der Plattenepithelkarzinome. Beim SSTR4 unterschieden sich die Ergebnisse zwischen der IRS-Klassifikation (22,72% positive Fälle) und dem Her2/neu-Score (68,18% gefärbte Präparate) wiederum sehr stark.

Auch für das Plattenepithelkarzinom konnten in der Literatur Arbeiten gefunden werden, die sich bereits mit der Frage beschäftigt haben, ob die Somatostatinrezeptoren auch bei dieser Tumorentität der Lunge exprimiert werden. Die in Tabelle 53 aufgelisteten Untersuchungen geben einen Überblick über die bisherige Datenlage.

**Tabelle 53:** Chronologische Auflistung der vorliegenden Literatur zur Expression der Somatostatinrezeptoren beim Plattenepithelkarzinom der Lunge. Angegeben ist die Anzahl an positiven Fällen bezogen auf die Gesamtzahl an Tumoren; n.u.: nicht untersucht

Autor	Fallzahl	Somatostatinrezeptorsubtyp				
		SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
Papotti et al. (2001)	3	n.u.	0/3	1/3	0/3	n.u.
Traub et al. (2001)	4	0/4	4/4	2/4	4/4	4/4
Singh et al. (2011)	22	n.u.	1/22	n.u.	n.u.	n.u.
Lupp et al. (2013)	3	0/3	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.

Den **SSTR1** konnten bisher weder Traub et al. (2001) noch Lupp et al. (2013) in den von ihnen untersuchten Plattenepithelkarzinomen finden. Damit unterscheiden sich diese Ergebnisse von denen der vorliegenden Arbeit, bei der circa zwei Drittel der Plattenepithelkarzinome nach der IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score eine SSTR1-Positivität zeigten. Diese Diskrepanz lässt sich auch hier durch die geringe Fallzahl in den Untersuchungen von Traub et al. (2001) und Lupp et al. (2013) begründen.

In Bezug auf den **SSTR2** finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse, wobei die Mehrzahl der Untersuchungen wiederum nur eine geringe Fallzahl aufwies.

Nach Traub et al. (2001) zeigten alle vier untersuchten Plattenepithelkarzinome eine SSTR2-Expression. Papotti et al. (2001) konnten wiederum bei keinem einzigen der drei von ihm untersuchten Tumore eine Positivität für den SSTR2 feststellen. Bei der einzigen Untersuchung mit einer größeren Fallzahl von Singh et al. (2011) ergab sich bei einem der 22 untersuchten Plattenepithelkarzinome eine SSTR2-Expression (entspricht 4,54% der Fälle). Diese Ergebnisse unterscheiden sich von den Daten der vorliegenden Arbeit, bei der unabhängig vom Bewertungssystem mindestens jedes zweite Plattenepithelkarzinompräparat SSTR2-positiv war.

Eine **SSTR3**-Expression beim Plattenepithelkarzinom wurde sowohl von Traub et al. (2001) als auch von Papotti et al. (2001) untersucht. Bei Papotti et al. (2001) zeigte eines von drei Präparaten und bei Traub et al. (2001) zwei von vier Tumoren eine Positivität für den SSTR3. Diese Werte liegen damit deutlich über den hier gefunden Zahlen mit circa 30% positiven Tumorpräparaten.

Bezüglich der **SSTR4**-Expression beschreiben Traub et al. (2001) alle vier untersuchten Tumorpräparate als positiv. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Papotti et al. (2001) keine einzige SSTR4-Positivität. Der Vergleich mit den eigenen Werten fällt insofern schwer, da die Bewertungssysteme IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score beim SSTR4 große Unterschiede zeigten. Nach dem Her2/neu-Score ergab sich eine Positivität in zwei von drei Fällen, die der von Traub und Kollegen recht nahe kommt. Allerdings konnten nach der IRS-Klassifikation nur rund 20% der Präparate als positiv gewertet werden.

Der **SSTR5**, der in der vorliegenden Arbeit bei allen untersuchten Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden konnte, zeigte auch bei Traub et al. (2001) mit vier von vier positiven Präparaten eine sehr häufige Expression. Leider fehlen weitere Vergleichsdaten aus der Literatur, um die vorliegenden Ergebnisse besser einordnen zu können.

Alles in allem mangelt es in der Literatur nicht nur bei den Adenokarzinomen sondern auch bei den Plattenepithelkarzinomen an größeren Datenmengen und Arbeiten mit größeren Fallzahlen, um die hier gefundenen Ergebnisse besser einordnen zu können. Außerdem fehlen Arbeiten, die neben der Positivität der Rezeptoren auch die

Expressionsstärke der einzelnen Rezeptoren analysieren, wodurch ein Vergleich mit den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnissen möglich wäre.

#### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

In den untersuchten Präparaten mit Kleinzelligen Bronchialkarzinomen wiesen alle Tumore eine SSTR5-Positivität auf. Am zweithäufigsten fand sich der SSTR2 mit einer Expression in 70% der Fälle, gefolgt vom SSTR4. Für den SSTR1 ergab sich bei beiden Bewertungssystemen für etwa 30% der Präparate eine Rezeptorexpression. Am seltensten war der SSTR3 nachweisbar, mit nur 7,14% positiven Tumoren.

In der Literatur finden sich fünf Arbeiten zur Expression der verschiedenen Somatostatinrezeptoren beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom (siehe Tabelle 54), wobei auch hier die Fallzahlen sehr gering sind. Lediglich die Daten von Sollini et al. (2013) basieren auf größeren Fallzahlen, allerdings wurde in dieser Untersuchung lediglich die SSTR2-Expression beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom untersucht.

**Tabelle 54:** Chronologische Auflistung der vorliegenden Literatur bezüglich der Expression der Somatostatinrezeptoren beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom. Angegeben ist die Anzahl an positiven Fällen bezogen auf die Gesamtzahl der Tumore; n.u.: nicht untersucht

Autor	Fallzahl	Somatostatinrezeptorsubtyp				
		SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
Reubi et al. (1994)	2	0/2	2/2	0/2	n.u.	n.u.
Papotti et al. (2001)	1	n.u.	1/1	0/1	n.u.	0/1
Traub et al. (2001)	2	0/2	2/2	1/2	2/2	0/2
Reubi et al. (2001)	2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
Lupp et al. (2013)	5	0/5	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.
Sollini et al. (2013)	24	n.u.	20/24	n.u.	n.u.	n.u.

Reubi et al. (1994, 2001), Traub et al. (2001) und (Lupp et al. 2013) konnten in ihren Untersuchungen kein einziges **SSTR1**-positives Kleinzelliges Bronchialkarzinom finden, wobei alle Untersuchungen jedoch nur mit sehr kleinen Probenzahlen durchgeführt worden waren (siehe Tabelle 54). Auch in der vorliegenden Arbeit ergab sich nur für etwa 30% der Tumore eine Positivität für den SSTR1.

Der **SSTR2**, der in der hier vorgestellten Untersuchung in fast drei Viertel aller Kleinzelligen Tumore vorgefunden wurde, konnte auch in mehreren anderen Veröffentlichungen bereits beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom nachgewiesen werden. So konnten Reubi et al. (1994), Papotti et al. (2001) und Traub et al. (2001) eine Expression des SSTR2 in allen ihren Proben zeigen. Erwähnenswert ist weiterhin die Studie von Sollini et al. (2013), in der 24 Patienten mit Kleinzelligem Bronchialkarzinom auf eine SSTR2-Expression hin untersucht worden waren, und die damit eine vergleichsweise große Fallzahl aufwies. Insgesamt waren bei Sollini et al. (2013) 66,6% der Präparate SSTR2-positiv, was dem in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnis mit 71,43% positiven Tumoren sehr ähnelt.

Der **SSTR3** konnte in der vorliegenden Arbeit nach beiden Bewertungssystemen nur in circa 10% der Proben nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse konnten auch Reubi et al. (1994, 2001) und Papotti et al. (2001) in ihren Untersuchungen zeigen, bei denen sich keine SSTR3-Expression ergab. Bei Traub et al. (2001) konnte in einem der zwei untersuchten Tumore der SSTR3 nachgewiesen werden.

In Bezug auf den **SSTR4** finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse. So konnten Traub et al. (2001) den SSTR4 in allen beiden getesteten Präparaten nachweisen, wohingegen Reubi et al. (2001) keines der beiden von ihnen untersuchten Präparate als SSTR4-positiv beschrieben. Ebenso widersprüchlich sind auch die hier vorgestellten Ergebnisse bezüglich der SSTR4-Expression zwischen der IRS-Klassifikation (36,36% positive Tumore) und dem Her2/neu-Score (71,43% der Fälle mit einer SSTR4-Expression), was wahrscheinlich, wie bereits erwähnt, auf die Verwendung eines polyklonalen Antikörpers und die dadurch bedingte erschwerte Auswertung der Färbeargebnisse zurückzuführen ist.

Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen, konnte bisher keine Forschergruppe eine **SSTR5**-Positivität zeigen (Papotti et al. 2001, Traub et al. 2001, Reubi et al. 2001). Dies widerspricht den hier vorgelegten Ergebnissen, bei denen alle Kleinzelligen Bronchialkarzinome eine SSTR5-Expression aufwiesen. Allerdings basieren die Daten in der Literatur auf Untersuchungen mit ausgesprochen kleinen Fallzahlen.

Wie schon für die Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome finden sich in der Literatur auch für die Kleinzelligen Bronchialkarzinome nur wenige Veröffentlichungen, in denen die Expression verschiedener Somatostatinrezeptorsubtypen analysiert wurde. Die meisten Untersuchungen und die höchsten Fallzahlen finden sich für den SSTR2, wohingegen die anderen Somatostatinrezeptoren bisher nur ungenügend untersucht worden sind oder zumindest die Fallzahlen bei den jeweiligen Studien sehr klein waren.

### 6.1.2 Häufigkeiten der CXCR4-Expression

#### *Adenokarzinom*

In der vorliegenden Untersuchung konnte nach beiden Bewertungssystemen bei allen untersuchten Adenokarzinomen eine CXCR4-Expression nachgewiesen werden. Dabei ergab sich für zwei von drei Präparaten eine schwache und für die restlichen Tumore eine mäßige Färbung.

In der Literatur finden sich nur drei Untersuchungen zur Expressionsstärke des CXCR4 beim Adenokarzinom (siehe Tabelle 55).

**Tabelle 55:** Chronologische Auflistung der vorliegenden Literatur bezüglich der CXCR4-Expression beim Adenokarzinom der Lunge.

Autor	Fallzahl	CXCR4-Expressionsstärke	
		schwach	stark
Spano et al. (2004)	32	24	8
Wagner et al. (2009)	132	75	57
Otsuka et al. (2011)	91	83	8

Spano et al. (2004) untersuchten in einer Studie 32 Patienten mit einem Adenokarzinom der Lunge und unterteilten die Expressionsstärke in zwei verschiedene Kategorien. Hierbei ergab sich für drei von vier Proben eine schwache CXCR4-Expression und für die restlichen Tumorpräparate eine starke Positivität. Neben Spano et al. (2004) beschäftigte sich auch die Forschergruppe um Wagner et al. (2009) mit der immunhistochemischen Untersuchung von Adenokarzinomen hinsichtlich einer CXCR4-Expression. Hierbei wurden 132 Tumore auf das Vorhandensein des Rezeptors geprüft und schließlich nach ihrer Färbeintensität ebenfalls in zwei Gruppen eingeteilt. Die Präparate mit keiner oder schwacher CXCR4-Expression wurden der ersten Gruppe

und alle anderen Präparate mit mäßiger oder starker Färbung der zweiten Gruppe zugeordnet. Letztendlich fanden sich 75 Präparate (56,81% der Fälle) mit schwacher und 57 Tumore (43,18% der Präparate) mit starker Kernfärbung (Wagner et al. 2009). In der vorliegenden Arbeit zeigte sich die Färbung des CXCR4 jedoch als membranständiges Immunsignal. Da eine Kernfärbung für einen membranständigen Rezeptor eher nicht zu erwarten ist, könnte dies ein Hinweis darauf sein, dass der von Wagner und Kollegen verwendete Antikörper dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Antikörper qualitativ unterlegen ist. Weiterhin untersuchten Otsuka et al. (2011) mit Hilfe der Immunfluoreszenz Präparate von 91 Patienten mit Adenokarzinom auf eine CXCR4-Expression des Tumors. Hierbei fanden sie bei 83 Proben (91,21% der Fälle) eine niedrige und bei 8 Patienten (8,79% der Tumore) eine starke CXCR4-Positivität. Somit ergab sich bei dieser Untersuchung ein größerer Anteil an schwach gefärbten Präparaten als in der vorliegenden Arbeit. Diese Abweichung kann möglicherweise durch die Verwendung andersartiger Untersuchungstechniken oder unterschiedlicher Antikörper bedingt sein.

#### *Plattenepithelkarzinom*

20 der 21 getesteten Plattenepithelkarzinome wiesen bei den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen eine CXCR4-Positivität auf. Dies entspricht somit einem Anteil von 95,24% der Präparate. Von allen positiven Tumoren fand sich bei drei von vier untersuchten Proben eine schwache und bei den übrigen Tumoren eine mäßige Färbeintensität des CXCR4.

Wie schon bei den Adenokarzinomen fanden sich auch für die Plattenepithelkarzinome drei größere Untersuchungen in der Literatur bezüglich einer CXCR4-Expression (siehe Tabelle 56).

**Tabelle 56:** Chronologische Auflistung der vorliegenden Literatur bezüglich der CXCR4-Expression beim Plattenepithelkarzinom der Lunge

Autor	Fallzahl	CXCR4-Expressionsstärke	
		schwach	stark
Spano et al. (2004)	22	16	6
Wagner et al. (2009)	20	17	3
Otsuka et al. (2011)	49	31	18



So untersuchten Spano et al. (2004) ebenfalls mit Hilfe der Immunhistochemie die Expression des CXCR4 bei Plattenepithelkarzinomen der Lunge und fanden hierbei bei ihren 22 untersuchten Tumorproben in 16 Fällen eine schwache CXCR4-Expression (72,72% der Tumore) und in 6 Proben eine starke Positivität (27,27% der Tumore) (Spano et al. 2004). Damit stimmen diese Ergebnisse sehr gut mit unseren Ergebnissen überein. Weitere 20 Plattenepithelkarzinome wurden von Wagner et al. (2009) untersucht. Hierbei konnten sie in 17 Präparaten (85% der Fälle) keine beziehungsweise nur eine schwache Färbeintensität nachweisen und in 3 Tumoren (15% der Fälle) eine starke CXCR4-Expression zeigen. Otsuka et al. (2011) fanden bei der Untersuchung von 49 Patienten mit Plattenepithelkarzinom 31 Proben (75,61% der Fälle) mit niedriger und 18 Tumore (36,73% der Fälle) mit hoher CXCR4-Expression. Eine Ursache für die Diskrepanzen zwischen den verschiedenen Untersuchungen könnte in der Verwendung unterschiedlich spezifischer Antikörper liegen.

#### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

Für alle untersuchten Kleinzelligen Bronchialkarzinome ergab sich in der vorliegenden Untersuchung bei der immunhistochemischen Beurteilung mit Hilfe des UMB-2 eine CXCR4-Positivität. Weiterhin fand sich im Vergleich zu allen anderen Rezeptoren beim CXCR4 die stärkste Färbeintensität. Stellt man alle drei Tumorentitäten gegenüber, lässt sich erkennen, dass die Kleinzelligen Bronchialkarzinome im Vergleich zu den beiden andern Entitäten beim CXCR4 die stärkste Färbeintensität aufwiesen und bei ihnen die höchsten Scorepunkte vergeben wurden. Nach dem Her2/neu-Score ergaben sich für den CXCR4 beim Kleinzelligen Bronchialkarzinom sogar ausschließlich mäßig (42,86% der Fälle) und stark gefärbte Tumorpräparate (57,14% der Fälle).

Burger und Kollegen erforschten bereits 2003 den CXCR4-Besatz an Zelllinien Kleinzelliger Bronchialkarzinome und fanden dabei heraus, ähnlich wie in der vorliegenden Untersuchung, dass alle Proben eine Expression des Rezeptors zeigten (Burger et al. 2003). Auch in den Studien von Kijima et al. (2002), wiesen alle 10 Zelllinien von Kleinzelligen Bronchialkarzinomen eine CXCR4-Positivität auf.

Derzeit fehlen in der Literatur Daten von Untersuchungen mit größerer Fallzahl bezüglich der CXCR4-Expression bei Kleinzelligen Bronchialkarzinomen, um die hier dargestellten Ergebnisse vergleichen und besser interpretieren zu können.

Zur Begründung für die abweichenden Ergebnisse zwischen den hier vorgestellten Daten und den bereits veröffentlichten Publikationen zu Kleinzelligen und Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen lassen sich nur Vermutungen anstellen. Zum einen sollte bedacht werden, dass zur Untersuchung des Vorkommens der Rezeptoren beim Bronchialkarzinom verschiedenste Methoden zum Einsatz kamen, die nicht ohne weiteres mit der hier verwendeten Immunhistochemie verglichen werden können. Zum anderen spielt sicher auch die Wahl der verwendeten Antikörper und deren Sensitivität und Spezifität eine entscheidende Rolle bei der Detektion der Rezeptoren. Auch bei der ausschließlichen Betrachtung der immunhistochemischen Untersuchungen wäre eine weitere Bedingung, um die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, dass die Forscher einen vergleichbaren Auswertescore nehmen. So verwendeten Spano et al. (2004) zwar auch die Immunhistochemie als Untersuchungsmethode, allerdings unterschieden sich die Auswertescores doch deutlich von der in der vorliegenden Arbeit verwendeten IRS-Klassifikation und dem Her2/neu-Score. So ist auch entscheidend, ab welcher Färbeintensität ein Tumor als positiv gilt. Nur wenn hier die Grenzen der Positivitäten bei den verschiedenen Arbeiten ähnlich definiert sind, ist auch ein sinnvoller Vergleich der Ergebnisse möglich. Einen weiteren Grund für die abweichenden Untersuchungsergebnisse kann auch das ausgewählte Patientenkollektiv liefern. So untersuchten Otsuka und Kollegen in ihrer Arbeit nur Patienten im Tumorstadium IV, wohingegen die Forscher um Spano ausschließlich Tumore von Patienten im ersten Tumorstadium für ihre Analysen verwendeten (Otsuka et al. 2011, Spano et al. 2004). Ein weiterer Grund für die abweichenden Ergebnisse sind sicherlich auch die bereits erwähnten geringen Fallzahlen der einzelnen Untersuchungen.

### 6.1.3 Expressionsmuster

Die Untersuchung der Expressionsmuster erfolgte mit dem Ziel, herauszufinden, welche Rezeptorkombinationen gehäuft miteinander auftreten und ob sich diese zwischen den verschiedenen Entitäten unterscheiden.

Bei den **Adenokarzinomen** ergaben sich nach der IRS-Klassifikation 11 und nach dem Her2/neu-Score 13 verschiedene Expressionsmuster. Mit 18,18% der Präparate war bei der IRS-Klassifikation das häufigste Muster die Positivität für den SSTR1, den SSTR4, den SSTR5 und den CXCR4. Abweichend dazu zeigte sich nach dem Her2/neu-Score

mit 22,71% der Tumore am häufigsten eine Positivität für den SSTR1, den SSTR2, den SSTR4, den SSTR5 und den CXCR4. In beiden Scores gab es kein komplett negatives Tumorpräparat. Eine Kombination von mindestens drei verschiedenen Somatostatinrezeptoren fand sich nach dem Her2/neu-Score in 85,71% der Fälle und nach der IRS-Klassifikation bei 77,27% aller Adenokarzinome. Beim Her2/neu-Score gab es ein Präparat, das für alle sechs Rezeptoren eine Positivität aufwies. Weiterhin zeigten alle Tumore eine CXCR4- und zu 95,45% eine SSTR5-Expression.

Bei der Betrachtung der **Plattenepithelkarzinome** zeigten sich nach der IRS-Klassifikation elf und nach dem Her2/neu-Score zehn verschiedene Expressionsmuster. Nach der IRS-Klassifikation fand sich mit 23,81% der Präparate bei den meisten Tumoren folgende Rezeptorkombination: SSTR1, SSTR2, SSTR5 und CXCR4. Laut Her2/neu-Score ergab sich für 33,33% der Plattenepithelkarzinome das häufigste Expressionsmuster mit Positivitäten für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Es gab keinen Tumor, der keine Rezeptorexpression zeigte und nach dem Her2/neu-Score fanden sich bei einem Plattenepithelkarzinom sogar alle sechs Rezeptoren. 95,24% aller untersuchten Präparate wiesen mindestens drei verschiedene Somatostatinrezeptoren auf.

Bei den **Kleinzelligen Bronchialkarzinomen** ergaben sich für beide Bewertungssysteme sieben verschiedene Expressionsmuster, wobei die Kombination folgender Rezeptoren am häufigsten vorkam: SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Es fand sich kein Präparat, bei welchem kein Rezeptor angefärbt wurde. Nach dem Her2/neu-Score zeigte ein Tumor eine Positivität für alle sechs Rezeptoren. Weiterhin wiesen alle Kleinzelligen Bronchialkarzinome eine CXCR4- und SSTR5-Expression auf. Nach der IRS-Klassifikation zeigten 85,71% der Präparate mindestens drei verschiedene Somatostatinrezeptoren (92,86% der Tumore nach dem Her2/neu-Score).

Reubi et al. (2001) untersuchten bereits Kleinzellige Bronchialkarzinome in Bezug auf die Expression der Rezeptoren SSTR1 bis SSTR5, wobei sich allerdings ausschließlich SSTR2-Positivitäten ergaben. Es traten also keine verschiedenen Somatostatinrezeptorsubtypen in Kombination miteinander auf (Reubi et al. 2001). Allerdings wurden bei dieser Untersuchung lediglich zwei Präparate von Kleinzelligen

Bronchialkarzinomen untersucht, womit die Frage nach der Repräsentativität dieser Ergebnisse offen bleibt. Auch Traub und Kollegen untersuchten Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome und Kleinzellige Bronchialkarzinome auf ihre SSTR-Expression. Von den vier untersuchten Plattenepithelkarzinomen zeigten 2 ein kombiniertes Auftreten des SSTR2, des SSTR4 und des SSTR5. Weitere zwei Präparate wiesen zusätzlich noch eine SSTR3-Expression auf. Bei den beiden Adenokarzinomen fand sich in beiden Präparaten eine SSTR2-Positivität und in einem der beiden zusätzlich eine SSTR4-Färbung. Alle anderen Rezeptoren waren nicht vorhanden. Weiterhin wurden zwei Kleinzellige Bronchialkarzinome untersucht, bei welchen sowohl der SSTR2 als auch der SSTR4 vorkam. Eines der beiden Präparate zeigte zudem noch eine SSTR3-Expression (Traub et al. 2001). Papotti et al. untersuchten ebenfalls verschiedene Arten von Lungentumoren auf deren Somatostatinrezeptor-Besatz. Dabei prüften sie mit Hilfe der Immunhistochemie die Expression der Rezeptoren SSTR2, SSTR3 und SSTR5. Unter den 25 verschiedenen Tumorproben in dieser Studie waren je ein Präparat mit einem Adenokarzinom und einem Kleinzelligen Bronchialkarzinom. Das Adenokarzinom zeigte lediglich eine SSTR5- und das Kleinzellige Bronchialkarzinom eine SSTR2-Positivität. Dagegen wies von den drei untersuchten Plattenepithelkarzinomen nur eines eine SSTR3-Positivität auf, ansonsten waren keine Somatostatinrezeptoren nachzuweisen (Papotti et al. 2001). Insgesamt gibt es jedoch nur wenige Daten über die Expressionsmuster der Somatostatinrezeptoren beim Bronchialkarzinom. Übereinstimmend fanden die meisten Autoren den SSTR2 in ihren Proben, wobei die überwiegende Anzahl der Ergebnisse nur auf sehr kleinen Fallzahlen beruht. Zu der Fragestellung, ob die Expression von Somatostatinrezeptoren womöglich auch mit einer CXCR4-Expression verbunden ist, wurden bisher noch keine Ergebnisse veröffentlicht, die einen Vergleich mit den hier vorgestellten Daten zulassen.

#### 6.1.4 Vergleich der Scores

Die immunhistochemische Auswertung der Tumore erfolgte mit Hilfe des IRS-Scores, des Her2/neu-Scores und der EGFR-Klassifikation. Letztere wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit in der vorliegenden Arbeit nicht mit aufgeführt, da sie in ihren Ergebnissen gut mit den beiden anderen Scores übereinstimmte. Um nun den Her2/neu-Score und den IRS-Score besser miteinander vergleichen zu können, wurde der IRS-Score zunächst in die IRS-Klassifikation transformiert. Somit war mit beiden

Bewertungssystemen eine vierstufige Bewertung der Tumore möglich (0: keine Färbung, 1: schwache Färbung, 2: mäßige Färbung, 3: starke Färbung). Bei der quantitativen Betrachtung der Färbehäufigkeiten war bereits ein erster Eindruck zu gewinnen, inwiefern beide Bewertungsmaßstäbe einheitliche Ergebnisse erzielen. Beim SSTR4 gab es zwischen den beiden Scores, unabhängig von der Tumorentität, größere Unterschiede. Dieses Ergebnis bestätigt auch die Tabelle 37, aus welcher die Korrelation zwischen Her2/neu-Score und IRS-Klassifikation für die verschiedenen Rezeptoren zu ersehen ist. Insgesamt ergaben sich für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR3 und CXCR4 hoch positive Werte für die Korrelation zwischen beiden Bewertungssystemen. Beim SSTR4 und SSTR5 waren die Korrelationskoeffizienten allerdings deutlich niedriger. Beim Her2/neu-Score fanden sich im Vergleich zur IRS-Klassifikation mehr positive Tumore und außerdem zeigten diese meist höhere Färbeintensitäten. Eine mögliche Ursache für die geringe Korrelation zwischen diesen beiden Bewertungssystemen beim SSTR4 könnte jedoch die erschwerte immunhistochemische Auswertung der Präparate bei dieser Färbung gewesen sein. Der Nachweis des SSTR4 erfolgte mit Hilfe eines polyklonalen Antikörpers, wodurch viele unspezifische Hintergrundfärbungen entstanden. Alle anderen verwendeten Antikörper waren monoklonal und zeichneten sich durch eine höhere Spezifität in Bezug auf ihre Zielstruktur aus. Somit erschwerten die vielen unspezifischen Hintergrundfärbungen die Auswertung des SSTR4. Sicherlich wäre hier eine erneute Auswertung mit Hilfe eines spezifischen monoklonalen Antikörpers empfehlenswert, welcher derzeit allerdings nicht verfügbar ist. Weiterhin spielen auch interindividuelle Bewertungsunterschiede zwischen verschiedenen Auswertern eine wichtige Rolle. Zwar wurden alle Tumore von einer Person bewertet, allerdings könnte dadurch der Vergleich mit bereits veröffentlichten Arbeiten erschwert sein, da die Färbeintensitäten von den einzelnen Personen möglicherweise verschieden beurteilt wurden. Als zukünftige Alternative könnte daher ein Software-gestütztes Auswerteverfahren durch Vereinheitlichung der Auswertung den Vergleich zwischen verschiedenen Arbeiten erleichtern.

## 6.2 Korrelationen zwischen den Expressionsintensitäten der Rezeptorsubtypen

### *Adenokarzinom*

Die Korrelationen zwischen den Intensitäten der Expression einzelner Rezeptorsubtypen erfolgte mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests für die Bewertungssysteme IRS-Score, IRS-Klassifikation und Her2/neu-Score. Hierbei konnte keine Korrelation zwischen den Expressionsstärken der verschiedenen Rezeptoren, die sich in allen drei Bewertungssystemen zeigte, gefunden werden. Insgesamt konnten jeweils für die einzelnen Bewertungssysteme bei den Adenokarzinomen drei signifikante Korrelationen verzeichnet werden, wobei sich für die Expressionsintensitäten der Rezeptoren SSTR2 und CXCR4 im Her2neu-Score ein inverser Zusammenhang ergab.

### *Plattenepithelkarzinom*

Auch bei den Plattenepithelkarzinomen fanden sich keine Korrelationen, die für alle drei Bewertungssysteme zuträfen. Es ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expressionsintensität des SSTR2 und des CXCR4 im IRS-Score und in der IRS-Klassifikation sowie zwischen dem SSTR4 und dem SSTR5 im IRS-Score. Für die letztgenannte Rezeptorkombination fand sich außerdem nach dem Her2/neu-Score eine tendenzielle Korrelation zwischen den Expressionsintensitäten der beiden Rezeptoren. Eine signifikante inverse Korrelation zeigte sich sowohl für den IRS-Score als auch für den Her2neu-Score bei den Rezeptoren SSTR3 und SSTR4 (siehe Tabelle 35).

### *Kleinzelliges Bronchialkarzinom*

Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ergaben sich vier Rezeptorkombinationen, bei denen sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Expressionsintensitäten der Rezeptoren nachweisen ließ (SSTR1 – SSTR2; SSTR1 – SSTR5; SSTR1 – CXCR4; SSTR5 – CXCR4). Außerdem fand sich nach dem IRS-Score zwischen den Expressionsintensitäten des SSTR1 und des SSTR4 ein tendenzieller Zusammenhang. Es fand sich keine Rezeptorkombination, die für alle drei Bewertungssysteme signifikante Werte erbrachte.

Für alle drei Entitäten konnten somit verschiedene Korrelationen zwischen der Expressionsintensität unterschiedlicher Rezeptoren gefunden werden. Keine Korrelation fand sich in allen Entitäten. Eine Einordnung der hier dargestellten Ergebnisse ist jedoch nur schwer möglich, da in der Literatur keine ähnlichen Daten, mit denen sich die Ergebnisse vergleichen lassen, zu finden waren.

### 6.3 Ki-67-Index

#### *Ki-67-Expression*

In der vorliegenden Arbeit wurden Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome und Kleinzellige Bronchialkarzinome auf ihre Ki-67-Expression hin untersucht. Dabei fanden sich je nach Tumorentität unterschiedliche Ki-67-Werte. Die größte Spannweite der Ki-67-Werte ergab sich bei den Adenokarzinomen (10 bis 60% positive Zellen) und den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen (40 bis 90% gefärbte Tumorzellen). Bei den Plattenepithelkarzinomen schwankten die Werte für den Ki-67 zwischen 20 und 60%. Bei der Berechnung der Mittelwerte ergab sich für die Adenokarzinome ein durchschnittlicher Ki-67-Index von 24,32%. Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen zeigten die Tumore im Durchschnitt 62,14% positive Zellkerne und die Plattenepithelkarzinome wiesen einen durchschnittlichen Wert von 58,33% gefärbter Tumorzellkerne auf.

Warth und Kollegen beschäftigten sich ebenfalls mit der Frage, wie hoch das Vorkommen des Proliferationsmarkers Ki-67 bei Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen ist. Dabei untersuchten sie 482 Patienten mit einem Adenokarzinom und 437 Patienten, die an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt waren. Sie berechneten schließlich ebenfalls die Mittelwerte der gefundenen Ki-67-Indizes und erhielten hierbei für die Adenokarzinome im Durchschnitt 25,8% positive Zellkerne und bei den Plattenepithelkarzinomen 52,8% gefärbte Tumorzellkerne (Warth et al. 2014). Diese Ergebnisse bestätigen die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ki-67-Werte für die Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome. Die Forscher um Araz et al. untersuchten ebenfalls Lungenkarzinome auf ihre Ki-67-Expressionsraten. Dabei unterteilten sie die Tumore in vier Gruppen, entsprechend der Häufigkeit der Ki-67-Färbung (Grad 1: 0-20% positive Zellen, Grad 2: 20-40% positive Zellen, Grad 3: 40-60% positive Zellen, Grad 4: >60% positive Zellen) (Araz et al. 2014). Bei der Untersuchung ihrer Patienten ergaben sich für die Adenokarzinome die niedrigsten Ki-

67-Expressionen (Grad 1: 25,0%, Grad 2: 44,4%, Grad 3: 22,2%, Grad 4: 8,3%), gefolgt von den Plattenepithelkarzinomen (Grad 1: 2,9%, Grad 2: 23,5%, Grad 3: 52,9%, Grad 4: 20,6%). Die höchsten Werte für den Ki-67 fanden sich, ebenso wie in der vorliegenden Arbeit, bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen. 80% der Tumore zeigten nach Araz mehr als 60% gefärbte Zellkerne und Tumore mit weniger als 20% positiven Zellkernen konnten nicht verzeichnet werden (siehe Abbildung 14). Somit lassen sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gut in die aktuelle Datenlage in der Literatur bezüglich der Ki-67-Expression bei Kleinzelligen und Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen einordnen.

#### *Korrelation zwischen dem Ki-67-Index und den Expressionsintensitäten der Rezeptoren*

In der Literatur finden sich bisher noch keine Daten zu einem Zusammenhang zwischen der Somatostatinrezeptor- und der Ki-67-Expression beim Bronchialkarzinom. Außerdem gibt es keine Ergebnisse, die die einzelnen Entitäten diesbezüglich vergleichen. Demnach ist eine Einordnung der hier vorgelegten Daten bisher nicht möglich. Es gibt allerdings bereits Untersuchungen, die sich mit der Ki-67-Expression und dem Vorkommen von Somatostatinrezeptoren bei anderen humanen Tumorgeweben beschäftigt haben. So fanden Qiu et al. (2006) einen inversen Zusammenhang zwischen der SSTR2- und SSTR3-Expression und dem Ki-67-Index beim kolorektalen Karzinom.

In Bezug auf die Expression des CXCR4 in Abhängigkeit vom Ki-67-Index zeigte sich in der vorliegenden Arbeit ein Zusammenhang ausschließlich für die Plattenepithelkarzinome und hierbei auch nur für den Her2/neu-Score ( $\tau = 0,424$ ,  $p = 0,027$ ). Für die Adenokarzinome und die Kleinzelligen Bronchialkarzinome ließ sich keine Korrelation zwischen der Rezeptorexpression und der Stärke der Ki-67-Färbung nachweisen. Eine Einordnung der gefundenen Ergebnisse ist bisher aufgrund von fehlenden Vergleichsdaten in der Literatur allerdings nicht möglich.

#### *Korrelation zwischen dem Ki-67-Index und dem Überleben*

In der vorliegenden Arbeit ergab sich keine Korrelation zwischen dem Überleben der Patienten und der Expression des Ki-67. Lediglich bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen ließ sich eine Tendenz für eine ungünstige Prognose feststellen ( $\tau = -0,506$ ,  $p = 0,062$ ). Somit kann der Ki-67-Index nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht als prognostischer Marker für das Bronchialkarzinom genutzt



werden. Die Rolle des Ki-67 als prognostischer Marker ist ein vielfach kontrovers diskutiertes Thema. Martin et al. (2004) zeigten bereits, dass der Ki-67-Index bei Patienten mit Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom keinen guten prognostischen Marker darstellt. Ganz im Gegensatz dazu bescheinigen Tabata et al. (2014) dem Ki-67 beim Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom eine hohe Aussagekraft als prognostischer Marker.

## 6.4 Überleben

Wie in Abbildung 12 auf Seite 53 zu sehen ist, fanden sich abhängig von der Tumorentität verschiedene Überlebenszeiten der Patienten. Die längste mediane Überlebenszeit ergab sich bei den Adenokarzinomen mit 20 Monaten, gefolgt von den Plattenepithelkarzinomen mit 18 Monaten. Die schlechteste Prognose hatten demnach die Patienten mit einem Kleinzelligen Bronchialkarzinom, mit einem medianen Überleben von elf Monaten. Das mediane Überleben ist stark vom Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt und der bei dem einzelnen Patienten durchgeführten Therapie abhängig. Beides wird an dieser Stelle nicht näher erläutert, da es den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen würde. Weiterhin lässt sich allerdings anmerken, dass die hier untersuchten Patienten möglicherweise ein längeres Überleben zeigten, da es sich bei dem gewählten Patientengut ausschließlich um chirurgische Patienten handelte. Alle Patienten, die in unsere Untersuchung eingeschlossen wurden, wiesen einen operablen Tumor auf, der somit mit einem vergleichsweise niedrigen T-Stadium einherging. Insofern wurde dadurch bereits eine Art Vorauswahl getroffen.

Nach den vorliegenden Ergebnissen gab es keinen einzigen Somatostatinrezeptor der einen statistisch nachweisbaren Einfluss auf die Überlebensdauer aufwies. Die Berechnung der Korrelationen zwischen Überleben und Rezeptorexpressionsstärke erfolgte mit Hilfe des Spearman-Tests und erbrachte keine signifikanten Ergebnisse. Nach dem Log-Rank-Test ergab sich ausschließlich beim SSTR2 ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Rezeptorexpression und dem Überleben. Dabei zeigten Patienten mit niedrigem IRS-Score für den SSTR2 ein längeres medianes Überleben als Patienten mit starker SSTR2-Expression (siehe Abbildung 37). Für alle anderen Somatostatinrezeptoren und auch für die getrennte Betrachtung der Tumorentitäten ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Expressionsstärke eines der untersuchten Rezeptoren und dem Überleben.

Vergleichsdaten bezüglich des Zusammenhangs zwischen der SSTR-Expression und der Prognose konnten in der Literatur für das Bronchialkarzinom im Allgemeinen, und für die drei Entitäten im Speziellen, nicht gefunden werden.

Dass ein Nachweis des CXCR4 mit einer verschlechterten Prognose einhergeht, konnten schon Otsuka und Kollegen bei ihren Untersuchungen von Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen zeigen (Otsuka et al. 2011). Dabei verglichen sie außerdem Patienten mit niedriger und hoher CXCR4-Expression, vergleichbar mit der hier dargestellten Untersuchung. Sie fanden bei den Patienten mit hoher CXCR4-Expression eine ungünstigere Prognose als bei den Patienten mit geringerer CXCR4-Positivität. Ebenso konnten auch Suzuki und Kollegen nachweisen, dass eine CXCR4-Expression beim Bronchialkarzinom mit einer Verschlechterung der Prognose einhergeht (Suzuki et al. 2008). In der vorliegenden Arbeit konnte, wie bei den Somatostatinrezeptoren, auch beim CXCR4 kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Überleben und der Rezeptorexpressionsstärke nachgewiesen werden. Eine Unterteilung der CXCR4-positiven Tumore mit Hilfe des Log-Rank-Tests in zwei Gruppen entsprechend ihrer Expressionsstärke (Gruppe 1: IRS-Score 0 bis 3, Gruppe 2: IRS-Score 4 bis 12) und auch die getrennte Analyse der drei Tumorentitäten erbrachte keine signifikanten Resultate. Insofern lassen sich die Angaben aus der Literatur hier nicht bestätigen.

## 7 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die Expressionshäufigkeiten und -intensitäten der Somatostatinrezeptoren SSTR1 bis SSTR5 sowie des Chemokinrezeptors CXCR4 bei drei verschiedenen Entitäten des Bronchialkarzinoms. Dabei fanden sich Hinweise darauf, dass die drei untersuchten Entitäten Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom und Kleinzelliges Bronchialkarzinom unterschiedliche Rezeptorkombinationen und Expressionsstärken für die jeweiligen Rezeptoren aufweisen.

Das häufigste Expressionsmuster nach der IRS-Klassifikation war bei den Adenokarzinomen mit circa 20% der Fälle eine gemeinsame Positivität für die Rezeptoren SSTR1, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Zwei Drittel der Adenokarzinome zeigten eine gleichzeitige Expression der Rezeptoren SSTR1 und SSTR5. Insgesamt ergab sich bei fast allen der analysierten Adenokarzinome eine Positivität für den SSTR5 und für alle Proben eine CXCR4-Expression. Zusätzlich wurden bei diesen beiden Rezeptoren auch die höchsten Färbeintensitäten vorgefunden. Diese hohen Inzidenzen und Färbeintensitäten des SSTR5 und des CXCR4 sprechen dafür, dass beide Rezeptoren möglicherweise in Zukunft als Zielstruktur bei der Diagnostik oder Behandlung der Adenokarzinome der Lunge eine Rolle spielen könnten. Im Gegensatz dazu wurden der SSTR2 und der SSTR3 bei den Adenokarzinomen nur selten und in schwachen Intensitäten beobachtet. Eine signifikante Korrelation zwischen der Expressionsstärke der verschiedenen Rezeptoren ergab sich beim Adenokarzinom ausschließlich für den SSTR1 und den SSTR4 sowie für den SSTR2 und den CXCR4, wobei es sich bei der letztgenannten Rezeptorkombination um einen inversen Zusammenhang handelte.

Bei den Plattenepithelkarzinomen zeigte nach der IRS-Klassifikation knapp ein Viertel der Präparate als häufigstes Expressionsmuster ein kombiniertes Vorkommen der Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR5 und CXCR4. Im Unterschied dazu ergab sich beim Her2/neu-Score als häufigstes Expressionsmuster bei einem Drittel der Fälle eine Positivität für die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4. Außerdem konnte für sämtliche Präparate eine SSTR5- und für fast alle Tumore eine CXCR4-Positivität festgestellt werden. Zusätzlich wurden bei diesen beiden Rezeptoren die stärksten Färbeintensitäten vermerkt. Wie auch bei den Adenokarzinomen könnten diese beiden Rezeptoren daher auch bei den Plattenepithelkarzinomen möglicherweise

als zukünftige diagnostische oder therapeutische Zielstruktur dienen. Die Rezeptoren SSTR3 und SSTR4 waren bei den Plattenepithelkarzinomen nur selten positiv. Es fanden sich signifikante Korrelationen zwischen den Expressionsstärken der Rezeptoren SSTR2 und CXCR4 sowie SSTR4 und SSTR5. Eine inverse Korrelation zeigte sich für die Rezeptoren SSTR3 und SSTR4.

Bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen traten am häufigsten die Rezeptoren SSTR1, SSTR2, SSTR4, SSTR5 und CXCR4 gemeinsam auf. 50% der Kleinzelligen Bronchialkarzinome zeigten eine gleichzeitige SSTR2- und SSTR5-Expression. Weiterhin fanden sich bei allen Präparaten eine SSTR5- und eine CXCR4-Positivität. Der SSTR3 war bei den Kleinzelligen Bronchialkarzinomen nur selten nachweisbar und lediglich schwach gefärbt. Außerdem korrelierten bezüglich der Expressionsintensität folgende Rezeptoren miteinander: SSTR1 und SSTR2, SSTR1 und SSTR5, SSTR1 und CXCR4 sowie SSTR5 und CXCR4.

In allen drei Entitäten fanden sich sehr hohe Inzidenzen für die Rezeptoren SSTR5 und CXCR4. Falls sich diese Ergebnisse in weiteren Experimenten bestätigen sollten, wäre es durchaus denkbar, diese beiden Rezeptoren als Zielstrukturen bei der Diagnostik und Therapie der Bronchialkarzinome in Erwägung zu ziehen.

Bezüglich des Überlebens, konnte in der hier vorgestellten Arbeit kein Zusammenhang mit der Expressionsstärke der verschiedenen Somatostatinrezeptoren oder des CXCR4 gezeigt werden.

Der Proliferationsmarker Ki-67 erbrachte bei den Adenokarzinomen im Durchschnitt mit 24,32% den niedrigsten Wert, gefolgt von den Plattenepithelkarzinomen mit einem Mittelwert von 58,33%. Wie erwartet, zeigten die Kleinzelligen Bronchialkarzinome die höchste proliferative Aktivität mit einem durchschnittlichen Ki-67-Index von 62,14%. Weiterhin fand sich in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen dem Ki-67-Wert und dem Überleben der Patienten.

Die hier vorgelegte Untersuchung ist ein erster Schritt bezüglich der Untersuchung der Expression der Somatostatinrezeptoren SSTR1 bis SSTR5 und des Chemokinrezeptors CXCR4 beim Bronchialkarzinom. Es wäre wünschenswert, wenn der hier vorgestellten Arbeit weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen folgen würden, die zur Überprüfung und zum Vergleich der dargestellten Ergebnisse beitragen könnten.

## 8 Literaturverzeichnis

- Arastéh K, Baenkler H, Bieber C, Brandt R, Chatterjee T, Dill T, Ditting T, Eich W, Ernst S, Fritze D, Fießl H, Goeckenjan G, Hahn J, Hamm C, Harenberg J, Hengstmann J, Herzog W, Hofmann T, Holzapfel N, Huck K, Kähler J, Keller M, Klingmüller D, Köster R, Kowol S, Kuck K, Löwe B, Matzdorff A, Müller-Tasch T, Nienaber C, Nikendei C, Pausch J, Petzsch M, Rösch W, Sauer N, Schlehofer B, Schmidt M, Schneider H, Schuchert A, Schwab H, Schweikert H, Stern H, Teschner A, Träder C, Usadel K, Veelken R, Wahl P, Zastrow A, Ziegler R, Zipfel S. 2009. Duale Reihe - Innere Medizin. Zweite vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 407- 414.
- Araz O, Demirci E, Yilmazel Ucar E, Calik M, Karaman A, Durur-Subasi I, Orsal E, Subasi M, Daloglu F, Akgun M. 2014. Roles of Ki-67, p53, transforming growth factor-beta and lysyl oxidase in the metastasis of lung cancer. *Respirology*, 19 (7):1034-1039.
- Balkwill F. 2004a. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer*, 4 (7):540-550.
- Balkwill F. 2004b. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin Cancer Biol*, 14 (3):171-179.
- Becker H, Drings P, Havemann K, Hasse J, Hermanek P, Junginger T, Müller K, Müller R, Niederle N, Schneider P, Schraube P, Vogt-Moykopf I, Wannenmacher M, Zelt J. 2004. Therapie des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms - Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft, 3-20.
- Boecker W, Denk H, Heitz U. 2004. Pathologie. Dritte völlig überarbeitete Aufl. München: Urban & Fischer Verlag, 84-88.
- Brambilla E, Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y. 2001. The new World Health Organization classification of lung tumours. *Eur Respir J*, 18 (6):1059-1068.
- Breitling F, Dübel S. 1997. Rekombinante Antikörper. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 23-26.
- Burger JA, Stewart DJ. 2009. CXCR4 chemokine receptor antagonists: perspectives in SCLC. *Expert Opin Investig Drugs*, 18 (4):481-490.
- Burger M, Glodek A, Hartmann T, Schmitt-Graff A, Silberstein LE, Fujii N, Kipps TJ, Burger JA. 2003. Functional expression of CXCR4 (CD184) on small-cell lung cancer cells mediates migration, integrin activation, and adhesion to stromal cells. *Oncogene*, 22 (50):8093-8101.
- Chensue SW. 2001. Molecular machinations: chemokine signals in host-pathogen interactions. *Clin Microbiol Rev*, 14 (4):821-835.
- Demmer O, Gourni E, Schumacher U, Kessler H, Wester HJ. 2011. PET imaging of CXCR4 receptors in cancer by a new optimized ligand. *ChemMedChem*, 6 (10):1789-1791.
- Fernandez EJ, Lolis E. 2002. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 42:469-499.

- Fischer BM, Mortensen J, Hojgaard L. 2001. Positron emission tomography in the diagnosis and staging of lung cancer: a systematic, quantitative review. *Lancet Oncol*, 2 (11):659-666.
- Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. 2008. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (11):4519-4524.
- Furusato B, Mohamed A, Uhlen M, Rhim JS. 2010. CXCR4 and cancer. *Pathol Int*, 60 (7):497-505.
- Ginsberg RJ, Rubinstein LV. 1995. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. *Ann Thorac Surg*, 60 (3):615-622.
- Goeckenjan G, Sitter H, Thomas M, Branscheid D, Flentje M, Griesinger F, Niederle N, Stuschke M, Blum T, Deppermann K, Ficker J, Freitag L, Lübke A, Reinhold T, Späth-Schwalbe E, Ukena D, Wickert M, Wolf M, Andreas S, Auberger T, Baum R, Baysal B, Beuth J, Bickeböller H, Böcking A, Bohle R, Brüske I, Burghuber O, Dickgreber N, Diederich S, Dienemann H, Eberhardt W, Eggeling S, Fink T, Fischer B, Franke M, Friedel G, Gauler T, Gütz S, Hautmann H, Hellmann A, Hellwig D, Herth F, Heußel C, Hilbe W, Hoffmeyer F, Horneber, Huber R, Hübner J, Kauczor H, Kirchbacher K, Kirsten D, Kraus T, Lang S, Martens U, Mohn-Staudner A, Müller K, Müller-Nordhorn J, Nowak D, Ochmann U, Passlick B, Petersen I, Pirker R, Pokrajac B, Reck M, Riha S, Rübe C, Schmittel A, Schönfeld N, Schütte W, Serke M, Stamatis G, Steingraber M, Steins M, Stoelben E, Swoboda L, Teschler H, Tessen H, Weber M, Werner A, Wichmann H, Irlinger Wimmer E, Witt C, Worth H. 2010. Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. Interdisziplinäre S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Krebsgesellschaft. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Goodman RH, Aron DC, Roos BA. 1983. Rat pre-prosomatostatin. Structure and processing by microsomal membranes. *J Biol Chem*, 258 (9):5570-5573.
- Gori S, Sidoni A, Colozza M, Ferri I, Mameli MG, Fenocchio D, Stocchi L, Foglietta J, Ludovini V, Minenza E, De Angelis V, Crino L. 2009. EGFR, pMAPK, pAkt and PTEN status by immunohistochemistry: correlation with clinical outcome in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab. *Annals of Oncology*, 20 (4):648-654.
- Gourni E, Demmer O, Schottelius M, D'Alessandria C, Schulz S, Dijkgraaf I, Schumacher U, Schwaiger M, Kessler H, Wester HJ. 2011. PET of CXCR4 expression by a (68)Ga-labeled highly specific targeted contrast agent. *J Nucl Med*, 52 (11):1803-1810.
- Hartmann TN, Burger JA, Glodek A, Fujii N, Burger M. 2005. CXCR4 chemokine receptor and integrin signaling co-operate in mediating adhesion and chemoresistance in small cell lung cancer (SCLC) cells. *Oncogene*, 24 (27):4462-4471.
- Helbig G, Christopherson KW, 2nd, Bhat-Nakshatri P, Kumar S, Kishimoto H, Miller KD, Broxmeyer HE, Nakshatri H. 2003. NF-kappaB promotes breast cancer cell migration and metastasis by

- inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4. *J Biol Chem*, 278 (24):21631-21638.
- Hirsch FR, Matthews MJ, Yesner R. 1982. Histopathologic classification of small cell carcinoma of the lung: comments based on an interobserver examination. *Cancer*, 50 (7):1360-1366.
- Hirsch FR, Herbst RS, Olsen C, Chansky K, Crowley J, Kelly K, Franklin WA, Bunn PA, Jr., Varella-Garcia M, Gandara DR. 2008. Increased EGFR gene copy number detected by fluorescent in situ hybridization predicts outcome in non-small-cell lung cancer patients treated with cetuximab and chemotherapy. *J Clin Oncol*, 26 (20):3351-3357.
- Hofland LJ, Lamberts SW. 2003. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev*, 24 (1):28-47.
- Horsch D, Sayeg Y, Bonnet R, Kaemmerer D, Presselt N, Baum RP. 2012. [Expert dialogue: neuroendocrine tumours of the lungs and gastroenteropancreatic system]. *Pneumologie*, 66 (1):44-48.
- IARC. 2004. International Agency for Research on Cancer - Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans; Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. World Health Organization 2004, Vol. 83.
- Jacobson O, Weiss ID. 2013. CXCR4 chemokine receptor overview: biology, pathology and applications in imaging and therapy. *Theranostics*, 3 (1):1-2.
- Jeung MY, Gasser B, Gangi A, Charneau D, Ducroq X, Kessler R, Quoix E, Roy C. 2002. Bronchial carcinoid tumors of the thorax: spectrum of radiologic findings. *Radiographics*, 22 (2):351-365.
- Karges W, Dahouk S. 2009. Innere Medizin ... in 5 Tagen. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 121-125.
- Keidar Z, Haim N, Guralnik L, Wollner M, Bar-Shalom R, Ben-Nun A, Israel O. 2004. PET/CT using 18F-FDG in suspected lung cancer recurrence: diagnostic value and impact on patient management. *J Nucl Med*, 45 (10):1640-1646.
- Kijima T, Maulik G, Ma PC, Tibaldi EV, Turner RE, Rollins B, Sattler M, Johnson BE, Salgia R. 2002. Regulation of cellular proliferation, cytoskeletal function, and signal transduction through CXCR4 and c-Kit in small cell lung cancer cells. *Cancer Res*, 62 (21):6304-6311.
- Lamberts SW, van der Lely AJ, de Herder WW, Hofland LJ. 1996. Octreotide. *N Engl J Med*, 334 (4):246-254.
- Liu YL, Yu JM, Song XR, Wang XW, Xing LG, Gao BB. 2006. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 and metastasis by hypoxia-inducible factor in non small cell lung cancer cell lines. *Cancer Biol Ther*, 5 (10):1320-1326.
- Lupp A, Nagel F, Schulz S. 2013. Reevaluation of sst somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-7. *Regul Pept*, 183C:1-6.

- Martin B, Paesmans M, Mascaux C, Berghmans T, Lothaire P, Meert AP, Lafitte JJ, Sculier JP. 2004. Ki-67 expression and patients survival in lung cancer: systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer*, 91 (12):2018-2025.
- McErlean A, Ginsberg MS. 2011. Epidemiology of lung cancer. *Semin Roentgenol*, 46 (3):173-177.
- Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verastegui E, Zlotnik A. 2001. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 410 (6824):50-56.
- Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Holtt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. 2003. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab*, 88 (11):5150-5157.
- Na IK, Scheibenbogen C, Adam C, Stroux A, Ghadjar P, Thiel E, Keilholz U, Coupland SE. 2008. Nuclear expression of CXCR4 in tumor cells of non-small cell lung cancer is correlated with lymph node metastasis. *Hum Pathol*, 39 (12):1751-1755.
- Naalsund A, Rostad H, Strom EH, Lund MB, Strand TE. 2011. Carcinoid lung tumors--incidence, treatment and outcomes: a population-based study. *Eur J Cardiothorac Surg*, 39 (4):565-569.
- Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, Yoshida N, Kikutani H, Kishimoto T. 1996. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 382 (6592):635-638.
- Otsuka S, Klimowicz AC, Kopciuk K, Petrillo SK, Konno M, Hao D, Muzik H, Stolte E, Boland W, Morris D, Magliocco AM, Bebb DG. 2011. CXCR4 overexpression is associated with poor outcome in females diagnosed with stage IV non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 6 (7):1169-1178.
- Papotti M, Croce S, Bello M, Bongiovanni M, Allia E, Schindler M, Bussolati G. 2001. Expression of somatostatin receptor types 2, 3 and 5 in biopsies and surgical specimens of human lung tumours. Correlation with preoperative octreotide scintigraphy. *Virchows Arch*, 439 (6):787-797.
- Patel YC. 1999. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*, 20 (3):157-198.
- Patel YC, Srikant CB. 1997. Somatostatin receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 8 (10):398-405.
- Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM. 2003. The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases. *Am J Respir Crit Care Med*, 167 (12):1676-1686.
- Piper W. 2007. *Innere Medizin*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 220-225.
- Prasad V, Fetscher S, Baum RP. 2007. Changing role of somatostatin receptor targeted drugs in NET: Nuclear Medicine's view. *J Pharm Pharm Sci*, 10 (2):321s-337s.
- Qiu CZ, Wang C, Huang ZX, Zhu SZ, Wu YY, Qiu JL. 2006. Relationship between somatostatin receptor subtype expression and clinicopathology, Ki-67, Bcl-2 and p53 in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 12 (13):2011-2015.



- Reisine T, Bell GI. 1995. Molecular properties of somatostatin receptors. *Neuroscience*, 67 (4):777-790.
- Rekhtman N. 2010. Neuroendocrine Tumors of the Lung - An Update. *Arch Pathol Lab Med*, 134:1628-1638.
- Remmele W, Stegner H. 1987. Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. *Der Pathologe*, 8:138-140.
- Reubi JC, Laissue J, Krenning E, Lamberts SW. 1992. Somatostatin receptors in human cancer: incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 43 (1-3):27-35.
- Reubi JC, Schaer JC, Waser B, Mengod G. 1994. Expression and localization of somatostatin receptor SSTR1, SSTR2, and SSTR3 messenger RNAs in primary human tumors using in situ hybridization. *Cancer Res*, 54 (13):3455-3459.
- Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissue JA. 2001. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*, 28 (7):836-846.
- Rink L, Kruse A, Haase H. 2012. *Immunologie für Einsteiger*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Robert Koch Institut. 2012. Zentrum für Krebsregisterdaten <[http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/krebsarten\\_node.html](http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/krebsarten_node.html)> (Stand 2012-12-17) (Zugriff: 2013-04-16).
- Saintigny P, Burger JA. 2012. Recent advances in non-small cell lung cancer biology and clinical management. *Discov Med*, 13 (71):287-297.
- Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182 (3):311-322.
- Siddiqui MT. 2010. Pulmonary neuroendocrine neoplasms: a review of clinicopathologic and cytologic features. *Diagn Cytopathol*, 38 (8):607-617.
- Siegel G, Malmsten M, Klussendorf D. 1998. Tumor cell locomotion and metastatic spread. *Microsc Res Tech*, 43 (3):276-282.
- Singh SP, Han L, Murali R, Solis L, Roth J, Ji L, Wistuba I, Kundra V. 2011. SSTR2-based reporters for assessing gene transfer into non-small cell lung cancer: evaluation using an intrathoracic mouse model. *Hum Gene Ther*, 22 (1):55-64.
- Sollini M, Farioli D, Froio A, Chella A, Asti M, Boni R, Grassi E, Roncali M, Versari A, Erba PA. 2013. Brief report on the use of radiolabeled somatostatin analogs for the diagnosis and treatment of metastatic small-cell lung cancer patients. *J Thorac Oncol*, 8 (8):1095-1101.
- Spano JP, Andre F, Morat L, Sabatier L, Besse B, Combadiere C, Deterre P, Martin A, Azorin J, Valeyre D, Khayat D, Le Chevalier T, Soria JC. 2004. Chemokine receptor CXCR4 and early-stage non-

- small cell lung cancer: pattern of expression and correlation with outcome. *Ann Oncol*, 15 (4):613-617.
- Su L, Zhang J, Xu H, Wang Y, Chu Y, Liu R, Xiong S. 2005. Differential expression of CXCR4 is associated with the metastatic potential of human non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res*, 11 (23):8273-8280.
- Suzuki M, Mohamed S, Nakajima T, Kubo R, Tian L, Fujiwara T, Suzuki H, Nagato K, Chiyo M, Motohashi S, Yasufuku K, Iyoda A, Yoshida S, Sekine Y, Shibuya K, Hiroshima K, Nakatani Y, Yoshino I, Fujisawa T. 2008. Aberrant methylation of CXCL12 in non-small cell lung cancer is associated with an unfavorable prognosis. *Int J Oncol*, 33 (1):113-119.
- Tabata K, Tanaka T, Hayashi T, Hori T, Nunomura S, Yonezawa S, Fukuoka J. 2014. Ki-67 is a strong prognostic marker of non-small cell lung cancer when tissue heterogeneity is considered. *BMC Clin Pathol*, 14:23.
- Teicher BA, Fricker SP. 2010. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 16 (11):2927-2931.
- Thomas M, Georg R, Gatzemeier U, Matthiessen W, Morr H, Schönfeld N, Ukena D, Stamatis G. 2000. Empfehlungen zur Diagnostik des Bronchialkarzinoms der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie. *Pneumologie*, 54:361-371.
- Traub T, Petkov V, Ofluoglu S, Pangerl T, Raderer M, Fueger BJ, Schima W, Kurtaran A, Dudczak R, Virgolini I. 2001. <sup>111</sup>In-DOTA-lanreotide scintigraphy in patients with tumors of the lung. *J Nucl Med*, 42 (9):1309-1315.
- Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC. 2004. Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, World Health Organization Classification of Tumors. 3rd ed Lyon, France: IARC Press, Vol 10.
- Travis WD, Rush W, Flieder DB, Falk R, Fleming MV, Gal AA, Koss MN. 1998. Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am J Surg Pathol*, 22 (8):934-944.
- Treszl A, Schally AV, Seitz S, Szalontay L, Rick FG, Szepeshazi K, Halmos G. 2009. Inhibition of human non-small cell lung cancers with a targeted cytotoxic somatostatin analog, AN-162. *Peptides*, 30 (9):1643-1650.
- Ung YC, Maziak DE, Vanderveen JA, Smith CA, Gulenchyn K, Lacchetti C, Evans WK, Lung Cancer Disease Site Group of Cancer Care Ontario's Program in Evidence-Based Care. 2007. <sup>18</sup>Fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the diagnosis and staging of lung cancer: a systematic review. *J Natl Cancer Inst*, 99 (23):1753-1767.
- Wagner PL, Hyjek E, Vazquez MF, Meherally D, Liu YF, Chadwick PA, Rengifo T, Sica GL, Port JL, Lee PC, Paul S, Altorki NK, Saqi A. 2009. CXCL12 and CXCR4 in adenocarcinoma of the lung: association with metastasis and survival. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 137 (3):615-621.

- Wahidi MM, Govert JA, Goudar RK, Gould MK, McCrory DC, American College of Chest P. 2007. Evidence for the treatment of patients with pulmonary nodules: when is it lung cancer?: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*, 132 (3 Suppl):94S-107S.
- Wald O, Shapira OM, Izhar U. 2013. CXCR4/CXCL12 axis in non small cell lung cancer (NSCLC): pathologic roles and therapeutic potential. *Theranostics*, 3 (1):26-33.
- Warth A, Cortis J, Soltermann A, Meister M, Budczies J, Stenzinger A, Goeppert B, Thomas M, Herth FJ, Schirmacher P, Schnabel PA, Hoffmann H, Dienemann H, Muley T, Weichert W. 2014. Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer: a critical reappraisal of its prognostic role. *Br J Cancer*, 111 (6):1222-1229.
- Weber WA, Dietlein M, Hellwig D, Kirsch CM, Schicha H, Schwaiger M. 2003. [PET with (18)F-fluorodeoxyglucose for staging of non-small cell lung cancer]. *Nuklearmedizin*, 42 (4):135-144.
- Wetzke M, Happle C. 2009. BASICS - Bildgebende Verfahren. Erste Aufl. Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.
- Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF, American Society of Clinical Oncology, College of American Pathologists. 2014. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med*, 138 (2):241-256.
- Xie HB, Cornwell R, Grossman JE, Hoerl HD, Kurtycz DF. 2002. Bronchoscopy-guided transtracheal and transbronchial fine-needle aspiration biopsy: a 5-year institutional review of 111 cases. *Diagn Cytopathol*, 27 (5):276-281.
- Yla-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J. 2007. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*, 49 (10):1015-1026.
- Yoshie O. 2013. Chemokine receptors as therapeutic targets. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 36 (4):189-196.
- Zhou Z, Chen ZW, Yang XH, Shen L, Ai XH, Lu S, Luo QQ. 2012. Establishment of a biomarker model for predicting bone metastasis in resected stage III non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 31:34.

## 9 Anhang

### 9.1 Lebenslauf

#### ■ Persönliche Daten

---

Name:	Claudia Stumpf
Anschrift:	Taltitzer Straße 8 08527 Plauen/OT Meßbach
Geburtstag:	28.03.1991
Geburtsort:	Oelsnitz im Vogtland
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	ledig

#### ■ Schulbildung

---

1997- 2001	J. F. Herbart Grundschule Plauen
2001- 2009	Lessing-Gymnasium Plauen
2009	Abitur

#### ■ Ausbildung

---

seit 10/2009	Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
09/2011	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2015	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, schriftlicher Teil
06/2016	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, mündlicher Teil

## 9.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau apl. Prof. Dr. med Amelie Lupp, Herr Dr. med. Daniel Kämmerer, Frau Elisa Specht,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 17.06.2016

Claudia Stumpf

### 9.3 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau apl. Prof. Dr. med. Amelie Lupp für die Vergabe des interessanten Themas, die fundierte fachliche Betreuung und die wissenschaftlichen Anregungen und Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen haben. Ich danke ihr für ihre unermüdliche Geduld sowie ihr außergewöhnliches und herzliches Engagement, mit welchem sie mich über die gesamte Zeit begleitet und motiviert hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei Dr. med. Daniel Kämmerer bedanken, der mir als Betreuer jederzeit zur Seite stand.

Ebenso danke ich den Mitarbeitern des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie für die stets freundliche Arbeitsatmosphäre und Hilfsbereitschaft während meiner dortigen Tätigkeit. Hierbei möchte ich besonders Frau Elisa Specht erwähnen, die stets ein offenes Ohr für alle meine Fragen hatte.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Labors für Pathologie und Zytologie in Bad Berka und speziell bei Dr. rer. nat. Jörg Säger für die Bereitstellung der Tumorproben bedanken.